ESCULAP

Enescu A Longinus

Oiţă N Nicolae

BAZELE VITAMINOTERAPIEI

VOLUMUL I

49

JUNIMEA

Scanned with OKEN Scanner

LONGINUS ENESCU NICOLAIE N. OIȚĂ

BAZELE VITAMINOTERAPIEI

Scanned with OKEN Scanner

PROF. DR. DOC.
LONGINUS ENESCU
Dr. în medicină, Dr. în farmacie
Dr. în chimie, ing. chimist

COLONEL
NICOLAIE N. OIȚĂ
Dr. în farmacie

BAZELE VITAMINOTERAPIEI

Vol. 1

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

	Pag.
PREFAŢĂ	11
VITAMINELE	13
VITAMINELE A. RETINOLII	21
1.1. Istoric	21
1.2. Nomenclatura vitaminelor A	23
1.3. Biogeneza carotenilor provitaminici	23
1.3.1. Surse de caroteni	26
1.3.1.1. Din vegetale	26
1.3.1.2. Din lichide şi ţesuturi animale	28
1.4. Proprietăţile fizico-chimice ale carotenilor	31
1.4.1. α — carotenul	31
1.4.2. β — carotenul	31
1.4.2.1. Sinteza β — carotenului	32
1.4.3. γ — carotenul	32
1.4.4. Criptoxantina	32
1.5. Dozarea carotenilor	33
1.6. Absorbţia şi conversia carotenilor	33
1.7. Unităţi de activitate	37
1.8. Retinol (vitamina A_1)	38
1.8.1. Aspecte stereochimice	38
1.8.1.1. Activitatea biologică a izomerilor	39
1.8.2. Sinteza vitaminelor A	40
1.9. Dehidroretinol sau vitamina A_2	42
1.10. Proprietăţile fizico-chimice ale vitaminelor A	42
1.11. Sursele vitaminelor A şi utilizarea biologică	43
1.12. Mecanisme de biochimie farmacodinamică	58
1.13. Vitaminele A în celule—în stări fiziologice normale şi patologice	59
1.13.1. Hipovitaminoza	59
1.13.2. Hipervitaminoza	66

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

1.13.2.1. Hipervitaminoza la animale 66
1.13.2.2. Hipervitaminoza la om 67
1.13.2.3. Observaţii morfologice şi biochimice 67
1.13.3. În starea fiziologică normală 69
1.14. Interrelaţia vitaminei A cu vitamine şi substanţe medicamentoase 69
1.15. Necesarul în vitamină A al organismului uman 72
1.15.1. La adult 72
1.15.2. La copii 74
1.15.3. Hipovitaminoza — manifestări 74
1.16. Metodele de separare, identificare şi dozare 77
1.16.1. Metode spectroscopice 79
1.16.2. Metode fizico-chimice 79
1.16.2.1. Metoda generală de dozare a provitaminelor şi vitaminelor A 79
1.16.2.2. Dozarea vitaminelor A şi a provitaminelor 80
1.16.3. Dozarea carotenilor şi a vitaminei A din sînge 80
1.16.4. Dozarea vitaminei A din ţesut hepatic 80
1.16.5. Dozarea vitaminei A din lapte şi smîntînă 80
1.16.6. Dozarea vitaminei A din medicamente 81
1.16.7. Metode biologice 81
1.16.7.1. Testarea pe animale 81
1.16.7.2. Testarea şi investigarea la om 82
1.17. Antivitamine 84
1.18. Preparatele farmaceutice cu indicaţiile terapeutice la om 84
1.19. Vitaminoterapie veterinară 90
1.20. Carotenoidele, vitamina A şi malignitatea 91
1.21. Caratenoidele, coloranţi alimentari 92
Bibliografie 93

VITAMINELE D. CALCIFEROLII 96
2.1. Istoric 96
2.2. Provitaminele D 98
2.2.1. Sursa provitaminelor 99
2.2.2. Izolarea provitaminelor D. Ergosterolul (provitamina D_2) 101
2.2.3. Ergosterolul 101
2.2.3.1. Lanosterolul 102
2.2.3.2. Zimosterolul 103
2.2.3.3. Desmosterolul 103
2.2.3.4. Provitamina D_4 103
2.2.3.5. Provitamina D_5 103
2.2.3.6. Provitamina D_6 103
2.2.4. Sinteza provitaminelor 103

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

2.2.5. Transformarea provitaminelor D în vitamine D 104
2.3. Constituţia chimică a vitaminelor D 108
2.4. Vitamina D_2 108
2.5. Vitamina D_3 109
2.5.1. Sinteza vitaminei D_3 110
2.5.2. Extracţia din surse biologice 111
2.5.3. Proprietăţile fizico-chimice 112
2.5.4. Unităţi de activitate 112
2.6. Vitamina D_4 112
2.7. Vitamina D_5 112
2.8. Vitaminele D_6 şi D_7 113
2.9. Corelaţia structură-activitate fiziologică 113
2.10. Metodele de dozare a vitaminelor D 114
2.10.1. Metode biologice 114
2.10.1.1. Testul bazat pe modificările minerale din os 115
2.10.1.2. Testul cu nitrat de argint sau „Line-test“ 115
2.10.1.3. Testul radiologic 115
2.10.2. Metode chimice 116
2.10.2.1. Reacţia cu triclorură de stibiu 116
2.10.2.2. Reacţia cu $AlCl_3$ 116
2.10.2.3. Alte metode 116
2.10.3. Metode fizice 116
2.11. Sursele şi acţiunea fiziologică a vitaminelor D 116
2.11.1. Sursele vitaminelor D 116
2.11.2. Necesarul şi resorbţia vitaminelor D 118
2.11.3. Înmagazinarea vitaminelor D în organism 124
2.11.4. Rolul vitaminelor D în metabolism 125
2.11.4.1. Hipovitaminoza 128
2.11.4.1.1. Rahitismul 128
2.11.4.1.2. Osteomalacia 136
2.11.4.2. Hipervitaminoza D 137
2.11.5. Interrelaţii cu vitamine şi hormoni 139
2.12. Antivitamine D 141
2.13. Preparate farmaceutice şi indicaţiile terapeutice la om 142
2.13.1. Terapia stărilor patologice la om 142
2.13.2. Vitaminoterapie veterinară 145
Bibliografie 145

VITAMINA E. TOCOFEROLII 148
3.1. Istoric 148
3.2. Structura chimică şi activitatea biologică 149

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

3.3. α — Tocoferolul 151
3.3.1. Structura şi biosinteza α — tocoferolului 151
3.3.2. Proprietăţile fizico-chimice ale α — tocoferolului 151
3.3.3. Sinteza α — tocoferolului 153
3.3.4. Prepararea α — tocoferolului din vegetale 154
3.4. β — tocoferolul 155
3.5. γ — tocoferolul 155
3.6. δ — tocoferolul 156
3.7. ε — tocoferolul 156
3.8. ζ — tocoferolul 157
3.9. η — tocoferolul 157
3.10. Proprietăţile fizico-chimice ale tocoferolilor 157
3.11. Metodele de dozare a tocoferolilor 158
3.11.1. Metode fizico-chimice 158
3.11.2. Metode biologice 159
3.12. Trocoferolii în natură 160
3.13. Tocoferolii în organisme 161
3.13.1. La om 161
3.13.2. La păsări şi animale 163
3.13.3. Acţiunea fiziologică a tocoferilor 166
3.13.3.1. Acţiunea antioxidantă 166
3.13.3.2. Rolul în oxidoreducerile celulare 168
3.13.3.3. Vitamina E şi activitatea enzimatică 169
3.13.3.4. Vitamina E şi metabolismul intermediar 170
3.13.4. Stări patologice 170
3.13.4.1. Hipovitaminoze 170
3.13.4.2. Hipervitaminoza E 176
3.13.5. Corelaţia vitaminei E cu alte vitamine şi efectele farmacodinamice . . 176
3.14. Interacţiunea cu unele medicamente 179
3.15. Necesarul de vitamine E 180
3.16. Unităţi de activitate 183
3.17. Antivitamine 183
3.18. Vitaminoterapie 184
3.18.1. Preparatele farmaceutice cu indicaţiile terapeutice la om 184
3.18.2. Cerinţele calitative pentru folosirea în terapeutică 185
3.18.3. Melanomul şi vitamina E 186
3.19. Vitaminoterapia veterinară 191
3.20. Incompatibilităţi 192
3.21. Observaţii 193
3.22. Vitamina E în industria alimentară 193

Bibliografie 193

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VITAMINA F. Acizi graşi esenţiali 195
4.1. Istoric 195
4.2. Nomenclatură şi structură chimică 195
4.3. Proprietăţi fizico-chimice 196
4.3.1. Acidul linolic 196
4.3.2. Acidul linolenic 197
4.3.3. Acidul arahidonic 197
4.3.3.1. Izolarea acidului arahidonic 197
4.3.3.2. Sinteza acidului arahidonic 197
4.3.3.3. Biosinteza acidului arahidonic 197
4.3.4. Acidul γ — linolenic 202
4.4. Metodele de dozare 203
4.4.1. Metodele biologice 203
4.4.2. Testul clinic 203
4.4.3. Testul biochimic 204
4.5. Distribuţia în natură 204
4.6. Resorbţia acizilor graşi esenţiali 207
4.7. Rolul fiziologic 208
4.7.1. Vitaminele F şi prostaglandinele 211
4.8. Cerinţele de acizi graşi nesaturaţi ale organismului 222
4.8.1. Hipovitaminoza F 224
4.9. Interacţiunea vitaminei F cu vitamine, enzime şi hormoni 225
4.10. Unităţi de activitate 226
4.11. Produsele farmaceutice şi cosmetice 227
4.11.1. Indicaţii terapeutice la om 227
4.11.2. Vitaminoterapie veterinară 228
Bibliografie selectivă 228
VITAMINELE K. Vitaminele antihemoragice 230
5.1. Istoric 230
5.2. Structura vitaminelor K 231
5.3. Vitamina K_1 (filochinonă) 233
5.3.1. Sinteza vitaminei K_1 233
5.3.2. Proprietăţile fizico-chimice 234
5.4. Grupa vitaminei K (farnochinone, menachinone) 234
5.4.1. Vitamina $K_{2(35)}$ 235
5.4.1.1. Sinteza vitaminei $K_{2(35)}$ 235
5.4.2. Vitamina $K_{2(30)}$ 237
5.4.3. Vitamina $K_{2(20)}$ 237
5.4.4. Vitamina $K_{2(45)}$ 237
5.5. Vitamina K_3 (menadiona) 237
5.6. Vitaminele K_4, K_5, K_6, K_7 238
5.7. Metode de dozare 239

Scanned with OKEN Scanner

	Pag.
5.7.1. Metode fizice	239
5.7.1.1. Metodele spectrografice	239
5.7.1.2. Metode polarografice	239
5.7.2. Metode chimiceé	239
5.7.3. Metodele biologice	240
5.8. Biogeneza vitaminelor K	241
5.9. Vitaminele K în natură	242
5.10. Rolul fiziologic al vitaminelor K	243
5.10.1. Acţiunea biochimică a vitaminelor K	245
5.10.1.1. În coagularea sanguină	245
5.10.1.2. În oxidoreducerile tisulare	251
5.10.2. Repartiţia în organism	254
5.10.3. Unităţi de activitate	254
5.10.4. Necesarul şi fiziopatologia vitaminei K	255
5.10.4.1. La om	255
5.10.4.2. La păsări şi animale	256
5.11. Compuşi chimici cu priorităţi asemănătoare vitaminelor K.	257
5.12. Relaţiile vitaminelor K cu alte vitamine	258
5.13. Interacţiuni cu medicamente	259
5.14. Preparatele farmaceutice şi indicaţiile terapeutice la om	259
5.14.1. Medicamente cu acţiune asemănătoare a vitaminelor K	262
5.15. Vitaminoterapie veterinară	263
5.16. Incompatibilităţi	263
5.17. Antivitaminele K	263
5.17.1. Efectele toxice ale antivitaminelor	266
Bibliografie selectivă	268
Inducţia enzimatică şi vitaminele liposolubile	270
Basses of vitaminotherapy Summary	274

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

În ultimii ani, proprietățile, cu rolul biocatalizator și farmacodinamic, cu efect terapeutic, al vitaminelor a început să fie reconsiderat, ținîndu-se seama de importanța lor în reglarea și coordonarea metabolismului intermediar celular, precum și în procesele biologice vitale ale organismelor vii.

Redarea — în mod sintetic și didactic — datelor științifice noi, care prezintă o importanță practică în abordarea complexelor probleme ale vitaminelor, de la existența în regnul vegetal și animal ca provitamine și vitamine, la sinteza chimică, cu relatarea aspectelor biochimice, fiziologice, fiziopatologice și clinice în carența lor din organism, pînă la funcția lor medicamentoasă, am considerat-o necesară, întrucît utilizarea terapeutică a vitaminelor se diversifică din ce în ce mai mult.

De asemenea, menționarea rezultatelor noi privind mecanismul molecular de acțiune la nivel celular în metabolismul intermediar, precum și interacțiunile vitaminice, vitamine-enzime cu unele medicamente, în stări fiziologice și fiziopatologice, influențate de factori interni și externi, cu evidențierea efectelor farmacodinamice și terapeutice la om și animale poate prezenta interes și utilitate.

Inițial, am dorit să înmănunchiem aici toate vitaminele, dar spațiul editorial nu ne-a permis o asemenea realizare întrucît materialul informativ este imens. Am prezentat în acest prim volum vitaminele liposolubile : A,

Scanned with OKEN Scanner

D, E, F și K, în speranța că vitaminele hidrosolubile: complexul B (B_1, B_2, B_3, B_5, B_6, B_{12} etc.), C, P, biotina, H_1, mezoinozitolul, acidul folic, C, acizii lipoici etc. să constituie o temă editorială (volumul II al „Bazelor vitaminoterapiei"), cu atît mai mult cu cît importanța și utilitatea ei este remarcabilă.

Lucrarea se adresează deopotrivă medicilor umani și veterinari, farmaciștilor, biologilor, chimiștilor, zootehnicienilor, studenților de la medicina umană și veterinară, farmacie, biologie, chimie, zootehnie etc. și tuturor acelora care utilizează vitaminele sau asigură unele produse și regimuri alimentare, ca orientare și documentare în acest domeniu de actualitate.

Autorii vor fi deosebit de recunoscători specialiștilor și persoanelor care vor indica sugestii și observații constructive, referitor la conținutul acestei lucrări și exprimă calde mulțumiri EDITURII JUNIMEA pentru înțelegerea și bunăvoința arătată în editarea lucrării.

Autorii

Scanned with OKEN Scanner

VITAMINELE

Vitaminele sînt substanţe organice, cu rol de biocatalizare, absolut necesare în cantităţi minime funcţiilor vitale ale organismelor tuturor speciilor şi provin, în general, din alimentaţie, fie ca atare, fie ca precursor al lor.

ISTORIC

Denumirea de vitamină a fost dată de Kazimierz Funk (1912) concentratului pe care l-a izolat din tărîţele de orez (1911), cu care a vindecat păsările (porumbeii, puii de găină) bolnave de polinevrită, datorită faptului că conţineau în structură gruparea aminică, indispensabilă vieţii; Funk considera drept amine acele substanţe de importanţă vitală, cu care era posibil să se evite sau să se trateze eficient maladiile ca : beriberi (datorată lipsei aneurinei — vitamina B_1) şi scorbutul (avitaminoză C).

O serie de simptome a unor maladii au fost observate şi descrise încă din antichitate care, datorită cercetărilor experimentale şi analizelor clinice din prima jumătate a secolului XX, au dovedit a avea ca etiologie avitaminozele.

Astfel, în papirusul „Ebber", de acum 3 500 de ani, este descrisă diminuarea şi pierderea vederii în lumina crepusculară, care s-a dovedit ulterior că este starea de hemeralopie ce apare în carenţa de vitamină A.

De asemenea, părintele medicinei, Hippocrate, descria încă din secolul IV î.e.n. o serie de simptome clinice specifice scorbutului (avitaminoza C).

În scrierile istorice ale lui Plinius sînt semnalate o serie de date clinice la unii soldaţi romani care, s-a constatat, aparţineau bolii de nutriţie, semnalată şi la marinarii lui Vasco de Gama (1498), denumită „scorbut" de Enricus Cordus, în 1543.

Unele observaţii şi simptome ale reumatismului la om au fost descrise de F. Glisson, în 1650, sub denumirea de „boala englezească".

Datorită cercetărilor efectuate, N.I. Lunin (1881), care a arătat că şoarecii albi hrăniţi cu lapte de vacă creşteau normal şi erau sănătoşi, iar cei hrăniţi numai cu elementele care intrau în compoziţia laptelui

ca : albumine, grăsimi, lactoză și săruri minerale se îmbolnăveau și mureau, a concluzionat că, în afară de elementele cunoscute din compoziția hranei, mai sînt și altele necunoscute, a căror lipsă din alimentație provoacă moartea.

Observațiile științifice apar în anul 1890, cînd armatele din Indiile olandeze au prezentat o îmbolnăvire de beri-beri (avitaminoza B_1) în proporție de 25%, datorată hranei cu orez decorticat, fapt ce a determinat pe medicul Ch. Eijkman să facă experimentări pe păsări (găini) ; el a arătat că păsările hrănite cu orez decorticat prezentau aceleași simptome de boală — polinevrită, care au fost înlăturate atunci cînd li s-a adăugat în alimentație coji de orez (tărîțe). Eijkman a stabilit cauza bolii beri-beri, într-un factor nutritiv și nu microbiologic.

Aceste constatări l-au determinat pe chimistul Funk să extragă din cojile de orez, substanța care vindecă polinevrita și căreia i-a dat numele de vitamină.

În 1914, Mc.Collum și M. Davis au denumit „factor de creștere A liposolubil" compusul izolat din extractele lipidice, care era capabil să vindece unele simptome ale avitaminozei A, iar în 1916, J. Drummond îi atribuie numele de „vitamina A" și, în 1931, P. Karrer reușește să-i determine structura chimică.

Concomitent, A. Windaus (1927—1937) explică structura provitaminelor D și transformarea lor fotochimică în vitamina D, iar H. M. Evans, D. E. Emerson (1936) izolează din uleiul de germeni de grîu alfa-și beta- tocoferolul (vitamina E), stabilindu-le structura chimică, pe care P. Karrer, în 1938, le sintetizează.

Tot în această perioadă (1929 — 1930), G.O. Burr, M.M. Burr, Evans Humes, Smedley, Mc. Lean au descris „boala de carență în grăsimi" datorată lipsei din alimentație a vitaminei F (acizilor grași : linoleic, linolenic, arahidonic), care determină tulburări cutanate, afecțiuni hepatice, renale, de reproducere, frînarea creșterii organismului etc. Cercetările efectuate paralel de către H. Dam (1929—34) evidențiază o serie de observații asupra existenței unei vitamine care este solubilă în grăsimi și a cărei lipsă produce hemoragii (gingivale, subcutanate, musculare, cerebrale, hepatice etc.), denumind-o vitamina coagulării, sau „vitamina K" (K = Koagulation vitamin).

În același timp (1931—1939) : **a** : s-a stabilit structura, sinteza și denumirea vitaminei B_2 (R. Ruhn, P. Gyorgy, Th. Wagner-Juaregg, P. Karerr, 1933—1936) — pe care comisia de chimie și farmacie a denumit-o riboflavină ; **b**: din drojdia de bere s-a extras o substanță (L. Wills, R.S. Vond — 1931) care avea acțiune asupra anemiei macrocitare și care a fost semnalată și în frunzele verzi de spanac, fapt pentru care a fost denumită acid folic, de către M. K. Mitchell, F. E. Snell, R. J. William (1941) ; **c**: a fost izolat din gălbenușul de ou un

Scanned with OKEN Scanner

constituent (F. Kögl, B. Tonnis — 1936), denumit biotina sau vitamina H ; **d** : a fost identificată piridoxina (vitamina B_6) din complexul vitaminelor B, căreia i s-a determinat structura (R. Kuhn, G. Wendt., 1938) și a fost preparată prin sinteză de S. Harris, K. Felkers, în 1939 ; de asemenea, G. A. Elvehjem, R. J. Modden, F. M. Strong și D. M. Wooly (1937) au izolat din ficat acidul nicotinic și amida sa (vitamina PP), arătînd că aceste substanțe vindecă „limba neagră", boală existentă la cîini, care apare în pelagră, cu menționarea că acești compuși se găsesc și în „vitamina" izolată (impur) de C. Funk (1912), cu acțiune anti-beri-beri ; în 1938, I.D. Sies și col. au vindecat cu aceste substanțe (vitamina PP) pelagra la oameni.

În cele șapte decenii ale secolului XX, cercetările de biochimie, fiziologie și terapeutică au stabilit „vitaminele" cunoscute astăzi sub mai multe denumiri :

1. *denumirea alfabetică*—care folosește literele mari ale alfabetului latin, în ordinea descoperirii vitaminelor : A, B, C, D, E, F etc.

Pe măsură ce cercetările au fost aprofundate, datorită și tehnicilor care au avansat, s-a determinat existența de noi factori în cadrul aceleeași litere, care au fost notați cu indici numerici (vitamina A_1, A_2, A_3, D_2, D_3, D_4—D_6, B_{1-15} etc), formîndu-se, totodată, la unele vitamine subgrupe în cadrul aceluiași indice numeric, notate alfabetic cu litere mici, de exemplu : Vitamina B_{12a} , B_{12b}, B_{12c} ;

2. *denumirea chimică* — care se bazează pe structura chimică a vitaminei ; exemplu : ergocalciferol pentru vitamina D_2, care provine din ergosterol ; colecalciferolul pentru vitamina D_3, întrucît provine din 7-dehidrocolesterolul ; tot astfel s-a dat denumirea de piridoxină pentru vitamina B_6, care este un derivat de piridină ; s-au denumit „Tocoferoli" vitamina E, întrucît este un amestec de compuși care au la bază „Tocolul= 2-metil-2-(4′, 8′, 12′-trimetil-tridecil)-cromen.

De asemenea, s-a numit acid pantotenic vitamina B_3, întrucît are în structură acidul pantoic ;

3. *denumirea terapeutică* s-a dat după efectul farmacodinamic ; exemplu : vitamina antiscorbutică (vitamina C), antixeroftalmică (vitamina A), antirahitică (vitamina D), antisterilică (vitamina E), antipelagroasă (vitamina PP), vitamina coagulării — koagulation — vitamina K.

Menționăm că în practica medicală și farmaceutică există diferite denumiri și nume ale vitaminelor, pe care le vom relata la fiecare vitamină descrisă.

ASPECTE GENERALE

Considerații generale. În terapia medicală și practica farmaceutică internațională se consideră ca foarte utilă clasificarea vitaminelor în

două grupe, după solubilitatea lor : (în lipide sau solvenți organici) — „vitamine liposolubile", iar cele care se solvă în apă și solvenți polari formează categoria de „vitamine hidrosolubile".

Există și excepții de la această catalogare ; de exemplu, sînt liposolubile vitaminele K naturale, pe cînd cele preparate prin sinteză sînt hidrosolubile (vitamina K_3 etc.).

Grupa vitaminelor liposolubile este formată din : vitaminele A,D, E, F, K ; din grupa vitaminelor hidrosolubile fac parte vitaminele : B_1, B_2, B_6, PP, acidul pantotenic, acidul folic, acidul para-aminobenzoic, biotina, vitamina B_{12}, P, C, mezoinozitolul.

Menționăm că au fost considerate ca vitamine și alți factori care manifestă importanță biologică și terapeutică, dar care în urma cercetărilor s-a constatat că nu îndeplinesc toate condițiile pentru a fi vitamine : exemplu : acizii lipoici, colina, Vitamina B_{14} (acidul pangamic), vitamina H_3 (procaina), care este principiul activ al gerovitalului și aslovitalului etc.

Unele specii animale, ca și organismul uman, iau din mediul exterior, o dată cu hrana, nu numai „vitamine" ci și „provitamine", care sînt precursori inactivi ce se transformă în organism în vitamine ; exemplu : ergosterolul din piele este transformat cu ajutorul razelor ultraviolete în vitamina D_2 ; de asemenea, provitamina denumită 7-dehidrocolesterol este transformată în vitamina D_3 ; la fel și carotenii suferă transformări la nivelul intestinului, în vitamina A, datorită enzimei carotenază.

De prezența vitaminelor depinde însăși fiziologia organismelor (existența, creșterea, înmulțirea tuturor speciilor).

Vitaminele sînt factorii necesari (esențiali) nu numai omului și animalelor, ci și microorganismelor și vegetalelor.

Capacitatea de biosinteză a vitaminelor este mai redusă la animale decît la plante.

Principala sursă de vitamine pentru om și animale o formează plantele ; organismul uman, ca și unele mamifere, sintetizează parțial unele vitamine ; de exemplu, vitamina PP din aminoacidul esențial triptofan.

De asemenea, microorganismele intestinale pot produce unele vitamine ; de exemplu : vitamina K, acidul PAB, acidul folic, acidul pantotenic, care acoperă în parte necesarul fiziologic al omului și al unor animale.

În condițiile în care cerințele fiziologice ale organismului nu sînt satisfăcute cu aportul de vitamine existent în hrană (alimente deficitare, subnutriție etc.), atunci apare carența, care se instalează insidios, dînd starea patologică de hipovitaminoză cu dereglările biochimice și sim-

Scanned with OKEN Scanner

ptomele clinice specifice, care fără tratament se pot accentua pînă la formele grave de avitaminoză.

Cerințele organismului în vitamine depind de o serie de factori : a. condițiile socio-economice ale organismului : condiții insalubre de locuit (locuințe întunecoase cu pereți umezi etc.), monoculturi agricole, componența chimică a apei potabile, lipsa unei alimentații variate și deficitare vitaminic, obiceiuri religioase în alimentație, distrugerea vitaminelor din alimente prin : prepararea hranei, conservare, consum exagerat de alcool, expunerea la agenți poluanți (fum, temperaturi ridicate, noxe, toxice etc.), intensitatea efortului fizic etc. ; **b.** individualitatea biochimică, care cuprinde și enzimoindividualitatea organismului (Bedeleanu, 1985) ; **c.** starea fiziologică a organismului (vîrstă, sex, graviditate, lactație, bioritmurile circadiene, circulunare, circuanuale, cînd necesitatea organismului este crescută față de anumite vitamine (C, D, B etc.) ; în această situație se impune administrarea unor doze mult mai mari decît cele folosite obișnuit, în scop preventiv, pentru a menține ascorbinemia în limitele fiziologice normale ; **d.** starea patologică a organismului (boli infectocontagioase, tbc, tulburări gastro-intestinale — ulcer, colite, diaree, rezecție gastrică, intestinală —, colicistectomie, afecțiuni hepatice, diabet, mixedem, afecțiuni lipidice, enzimopatii etc.), cînd necesarul în anumite vitamine este mai crescut iar absorbția lor este tulburată și, totodată, este deficitară și capacitatea organismului de transformare a provitaminelor în vitamine ; **e.** administrarea unor medicamente care, unele, inhibă vitaminogeneza florei intestinale (de exemplu : sulfamidele, unele antibiotice), altele accentuează consumul vitaminic în organism (hidrazida acidului izonicotinic — HIN, acidul para-aminosalicilic — PAS) sau poate antagoniza acțiunea vitaminelor (salazosulfopiridina) ; **f.** prezența unor compuși (alimentari, poluanți) cu acțiune antagonistă a vitaminelor, denumite „antivitamine", care au aceeași structură chimică cu cea a vitaminelor, dar care determină în organism simptome ale carențelor vitaminelor respective.

Alte substanțe au rol antivitaminic, întrucît inactivează vitaminele, prin formarea cu acestea a unor complexe inactive farmacodinamic ; de exemplu, proteina din albușul de ou nefiert formează cu biotina un complex inactiv vitaminic.

De asemenea, sînt unele enzime care-și manifestă rolul antivitaminic prin scindarea structurii provitaminelor sau vitaminelor ; de exemplu, provitaminele A sînt inactivate de lipoxidaze, vitamina C, de ascorbază, vitamina B_1, de tiaminază.

Vitaminoterapia științifică, în scop preventiv sau curativ, impune și cunoașterea mecanismului de acțiune al vitaminelor la nivelul celular și chiar molecular-enzimatic, unde acestea participă la importante procese biochimice, ce impun efecte farmacodinamice.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, unele vitamine hidrosolubile intră în structura enzimelor funcționînd ca părți active ale acestora, purtînd denumirea de coenzime — de exemplu : principalul rol fiziologic al vitaminei B_1 derivă din funcția de coenzimă a acesteia sub formă de tiaminpirofosfat (TPP), care intervine în următoarele tipuri de reații biochimice : decarboxilarea neoxidativă directă, decarboxilarea oxidativă și scindarea fosforoclastică a alfa-cetoacizilor. La fel, vitamina B_6 (piridoxina) acționează sub formă coenzimatică de piridoxal fosfat la transformarea enzimatică neoxidativă a aminoacizilor (transaminaze, desaminaze, aminoacid-decarboxilaze) acționînd, în același timp, ca factor de creștere esențial în alimentația animalelor și a multor organisme și microorganisme. Biotina, sub diferite forme enzimatice, acționează în biosinteza acizilor grași, a colesterolului, a aminoacizilor, a bazelor purinice, pirimidinice și, respectiv, a acizilor nucleici, a proteinelor tisulare și enzimatice ; mai intervine în metabolismul glucidic, în transformarea triptofanului în vitamină PP etc.

Vitaminele intervin în toate celulele organismului, în reacțiile de oxido-reducere ; de exemplu, vitamina PP este transformată de organism în coenzimele NAD, NADP (codehidraze), care sînt implicate în biosinteza reactivă (NADP), ca sinteză de acizi grași și colesterol, în reducerea ribozei la dezoxiriboză, în sinteza steroizilor, în detoxifieri de medicamente, în glicoliză și gliconeogeneză (NAD) etc.

Vitamina B_2 intervine în două forme coenzimatice, și anume ca flavinmononucleotid (FMN) și ca flavindinucleotid (FAD), care se găsesc în structura flavinenzimelor, ce au un rol important în procesele oxidoreducătoare din varietatea de reacții metabolice intermediare ale glucidelor, lipidelor, proteinelor, în exercitarea efectelor unor oligoelemente (Fe, Cu etc.) în procesul vederii etc. Acizii folici, sub forma de acizi tetrahidrofolici, formează coenzimele unor sisteme de activare și transport al fragmentelor „C_1", implicate în biosinteza bazelor purinice, a nucleotidelor, a proteinelor, în formarea grupărilor metil, a colinei, serinei metioninei etc.

Sînt vitamine, ca acidul pantotenic, care activează forma de coenzimă acetilată în reacțiile de transacetilare în formarea acetilcolinei, în acidul citric, în catabolismul și biosinteza acizilor grași, în formarea acidului hipuric etc.

În descrierea vitaminelor s-a căutat să se menționeze și implicațiile fiecărei vitamine în metabolismul intermediar, care menține echilibrul fiziologic și imprimă efectul farmacodinamic.

La om și animale, dezechilibrele alimentare (diete bogate în lipide, glucide etc.), administrarea unor medicamente sau starea de polipragmazie umană pot determina stări patologice ca : monocarențe sau policarențe vitaminice.

Scanned with OKEN Scanner

Adesea, datorită unei vitaminoterapii intense şi, mai rar, în urma unei alimentaţii excesive bogate în vitamine sau provitamine (morcovi, peşte oceanic etc.) poate apare starea de hipervitaminoză, ale cărei simptome se manifestă, uneori, ca în intoxicaţiile medicamentoase (vitamina A, D). La doze mari de vitamină E, care depăşesc 1 000 UI/zi, pot apare hemoragii ca urmare a antagonismului cu vitamină K şi, eventual, a efectului cumarinic crescut. Literatura menţionează cazuri de sensibilitate asemănătoare alergiei după administrarea unor vitamine (A, E, B_1 etc.).

Din cele menţionate, considerăm că se impune şi o anamneză minuţioasă încadrată în arsenalul cunoştinţelor, care trebuie să ţină seamă şi de posibilile interacţiuni medicamentoase — de exemplu : vitamina E favorizează stabilitatea acizilor graşi esenţiali, vitamina C provoacă o creştere a absorbţiei fierului, cantităţile mari de vitamină A şi E inhibă absorbţia vitaminei K şi acţiunea acesteia ; la fel, dozele mari de acid folic pot atenua efectele hematologice ale carenţei de vitamină B_{12}, dar accentuează efectele neurologice.

Antibioticele cu spectru larg reduc sau distrug flora intestinală şi deci formarea vitaminei K sau a unor vitamine din grupul B. Administrarea colestiraminei poate limita absorbţia vitaminelor liposolubile, iar medicamentele cumarinice provoacă inhibarea coagulării şi deci acţiunea vitaminei K.

De asemenea, la baza administrării vitaminelor considerăm că trebuie să stea şi deosebirea netă între suplimentarea cu vitamine a alimentaţiei zilnice şi utilizarea terapeutică a vitaminelor, care se stabilesc individual, ţinîndu-se seama de cele menţionate la fiecare vitamină.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL 1

VITAMINELE A. RETINOLII

Denumirea de vitamine A este aplicată la un număr de substanțe cu structură foarte asemănătoare, găsite în țesuturile animale.

1.1. Istoric

Vitaminele A sînt cunoscute ca cele mai vechi produse vitaminice. Încă de acum 3 500 de ani, în papirusul „Ebber", este semnalată hemeralopia. Din antichitate se cunoaște faptul că ingestia de ficat este favorabilă vederii și, mai ales, vederii din timpul nopții ; de atunci se remarcă faptul că o deficiență în dietă poate da hemeralopie.

Corelația dintre capacitatea de a vedea la întuneric și activitatea vitaminei A a fost demonstrată la șobolani, iar mai tîrziu s-a arătat că pigmenții purpurei vizuale formau factorul esențial pentru vederea scotoptică și anume erau complecși de proteină a vitaminei A.

În 1904 s-a semnalat la un număr mare de copii necroza conjunctivă ; prin cercetările efectuate s-a ajuns la concluzia că populația ce utilizează un regim vegetarian suferă de keratomalacie, care reprezintă, după unii autori (1, 2), leziunea corneană. Cauza unor necroze grave a corneei la copii hrăniți cu lapte degresat a fost denumită „foametea grasă".

I. Stepp și F. Hopkins, în 1909, au relatat că apar simptome de boală și greutăți în creșterea animalelor, în cazul cînd acestea sînt hrănite cu alimente din care s-au efectuat extracte cu amestec de alcool și eter.

Obsborne, Mendel, McCollum și Davis, pe baza experimentărilor pe animale, au stabilit că șobolanii tineri nu ajung la maturitate atunci cînd sînt hrăniți numai cu proteine, hidrați de carbon, slănină și sare ; dacă li s-a adăugat în hrană extractul eteric din unt sau din ou, creșterea a revenit repede la normal, ceea ce a dus la concluzia că în hrană se găsesc unii factori esențiali de creștere.

Cercetările (3) au arătat că xeroftalmia se datorează factorului de creștere care este solubil în grăsimi.

În timpul primului război mondial s-a descoperit legătura dintre carența clinică de vitamină A și cea experimentală, cînd s-a observat

Scanned with OKEN Scanner

că xeroftalmia la om era o consecință a scăderii cantității de unt (bogat în vitamina A) din regimul alimentar.

Tot în această perioadă sindromul clinic provocat de lipsa vitaminei A a fost evidențiat mai ales în Danemarca, unde se consuma margarină, în loc de unt.

Factorul de creștere solubil în grăsime a fost pentru prima dată evidențiat în 1914, de Mc Collum E. V. și Davis M., sub denumirea de „factor A liposolubil".

În 1916, acest factor, care nu era distrus de substanțele alcaline, a fost denumit de Drummond „ vitamina A".

P. Karrer și col. (4), în 1931, au izolat vitamina A și i-au determinat structura chimică, iar cîțiva ani mai tîrziu (1937) s-a reușit să se prepare și sintetic (5), în laborator.

Concomitent s-au făcut studii și asupra surselor de vitamină A pentru organismul animal, găsindu-se că acestea aparțin clasei carotenilor, care sînt biosintetizați în special de plante; totodată, s-a arătat că ele posedă o activitate identică cu a vitaminei A.

În 1938, H. Euler și P. Karrer au demonstrat că substanțele colorante din plante, carotenii, au același efect fiziologic ca și vitamina A, semnalîndu-i ca fiind provitamină A.

Th. Moore (1930) și H. von Euler (1938) au arătat că vegetalele bogate în caroteni au proprietatea de a preîntîmpina îmbolnăvirea animalelor, precum și calitatea de a înlătura simptomele avitaminozei A.

În 1930, Th. Moore, analizînd țesutul hepatic al animalelor de experiență, demonstrează că preparatele de caroten administrate șobolanilor avitaminați sînt transformate de organismul animal în vitamină; s-a preconizat, astfel, că preparatele cu caroteni sînt precursori ai vitaminei A in vivo.

J. Gross și P. Budawski, în 1986, au constatat că unii pești din lacuri formează retinolul (vitamina A_1) din β-caroten și derivații lui oxigenați ca: izozeaxantina, cantaxantina și astaxantina. Împreună cu vitamina A s-a găsit și β-caroten la peștii care au primit 4-oxocarotenoide și 4-hidroxicarotenoide, ceea ce a demonstrat că aceste substanțe au un rol semnificativ, ca precursori ai vitaminei A pentru pești.

După administrarea unor cantități mari de caroten șobolanilor, care erau în deficit experimental de vitamină A, și analiza grăsimilor hepatice după sacrificarea animalelor, s-a găsit în uleiurile hepatice ale acestora o proporție de 99% vitamină A din carotenul administrat.

Cercetările ulterioare au arătat că provitaminele sînt generos distribuite în regnul vegetal, iar vitamina A a fost găsită numai la animale, mai ales în ficatul și viscerele de pește și mamifere.

Cercetările în acest domeniu, între anii 1928—1930, au dus la determinarea structurii β-carotenului (6), pentru ca în 1950 acesta să fie preparat prin sinteză (7).

Scanned with OKEN Scanner

Concomitent, s-au cunoscut şi proprietăţile altor provitamine naturale în plantele verzi : α şi β-carotenii şi criptoxantina ; în alge : afanina, mixoxantina şi afamicina ; în ficat : hepaxantina.

1.2. Nomenclatura vitaminelor A

Comisia pentru nomenclatura în chimia biologică a recomandat, după regulile IUPAC (1957), IUPAC-IUB (1966) mari schimbări în denumirea vitaminelor A şi a derivaţilor lor. Astfel, compusul cunoscut ca vitamina A_1 este astăzi denumit retinol. De asemenea, acidul şi aldehida corespunzătoare vitaminei A_1 sau retinolului sînt denumite respectiv acidul retinoic şi retinal.

Înainte ca aceste denumiri să fie oficializate, derivaţii şi stereoizomerii vitaminei A_1, ai aldehidei vitaminei A_1 şi ai acidului vitaminei A_1 au fost denumite, cînd au fost descoperite, vitamina A_2, neovitamina A_1, retinen$_2$, izoretinen A, acidul neovitaminei A etc. ; conform noilor reglementări în grupul vitaminelor A, toţi aceşti compuşi au fost desemnaţi ca : retinol, retinal, acid retinoic, 3-dehidroretinolul, 3-dehidroretinalul etc.

La simpozioanele asupra carotenoidelor (Berna-Elveţia, 1975 ; Madison, Wiacousin, S.U.A., 1978 ; Liverpol-Anglia, 1981 ; Munchen-R.F.G., 1984) s-a utilizat, în cea mai mare parte, nomenclatura obişnuită, iar nomenclatura semisistematică este indicată a fi utilizată în cazul unor noi carotenoide, a redării structurii lor , cît şi în cazul unor noi derivaţi.

1.3. Biogeneza carotenilor provitaminici

În toate ţesuturile plantelor există o serie de caroteni care diferă doar prin raportul dintre carbon şi hidrogen. Numele de caroteni a fost dat de Twet (1911) pigmenţilor galbeni din plante.

Carotenii au fost izolaţi pentru prima oară în 1831, de către H. Wakenroder, sub formă de cristali roşii-rubinii, din morcov, pe care i-a denumit carotină. În 1907 Willstäter a demonstrat identitatea carotenului obţinut din morcov cu cel din frunze ($C_{10}H_{56}$).

În 1931, I. Kuhn a reuşit să descompună carotenul cu ajutorul metodei de absorbţie cromatografică în 3 izomeri (α-carotenul circa 10%, β-carotenul 90% şi γ-carotenul circa 0,1%).

Cercetările (20) au arătat că toţi carotenii au acelaşi precursor, denumit fitenul ($C_{40}H_{64}$), care are la bază acetil-CoA. Acetatul activat (acetil-CoA) provine din catabolismul glucidelor, lipidelor şi chiar al protidelor. Majoritatea compuşilor saturaţi ai fitenului conţin 9 legături duble, din care 3 sînt în conjugare, iar structura fitenului este similară

Scanned with OKEN Scanner

cu cea a scualenului, făcînd excepție doar cu legătura centrală, care este nesaturată. Fitenul poate fi dehidrogenat, dînd o serie de compuși care se găsesc în natură : așa sînt seriile pentru carotenii alifatici : fitenul ($C_{40}H_{64}$) , fitofluenul ($C_{40}H_{62}$), zeta-caroten ($C_{40}H_{60}$), neurosporenul ($C_{40}H_{58}$), licopenul ($C_{40}H_{56}$), dehidrolicopenul ($C_{40}H_{54}$) și bis-dehidrolicopenul ($C_{40}H_{52}$).

Prima teorie a biogenezei carotenoizilor a fost prezentată de W. Porter și E. Lincoln, care au stabilit rolul inițial al tetrahidrofitenului, care este dehidrogenat spre fiten, fitofluen, tetrahidrolicopen (neurosporen) și licopen (fig. 1).

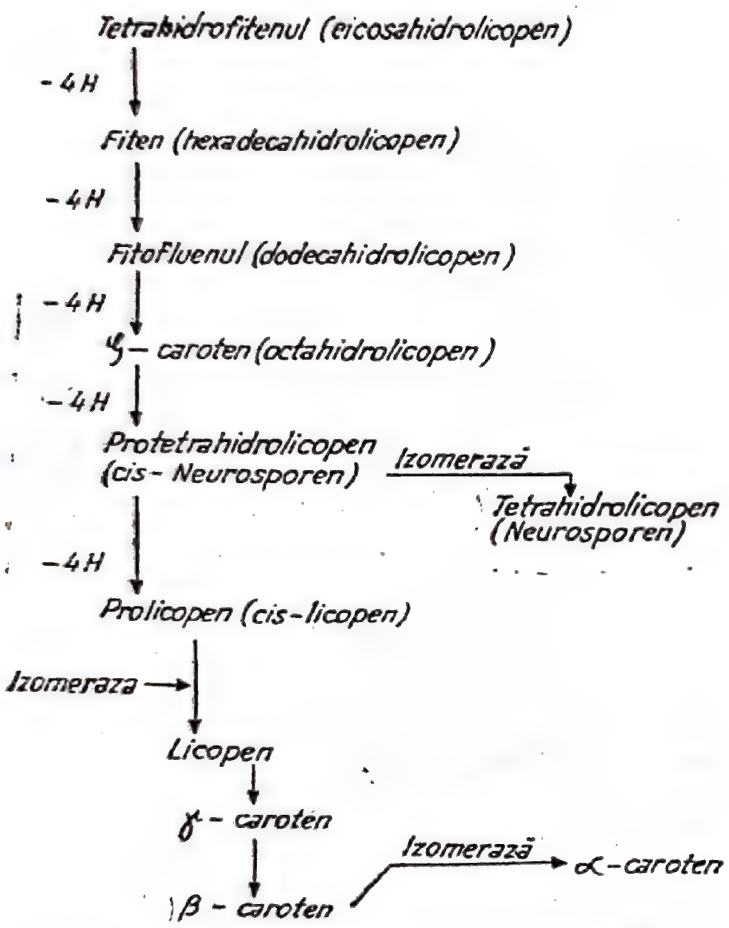


Fig. 1 — Biogeneza carotenilor.

Licopenul dă naștere (17) la γ și β-caroteni iar α-carotenul apare prin izomerizarea β-carotenului. Această teorie a fost sprijinită de lucrări experimentale pe varietăți de tomate, care au dovedit că conțin compușii sus-amintiți.

Mai tîrziu, W. Goodwin a ajuns la concluzia că sinteza de β-caroten, cel puțin în etapele finale, nu trece prin licopen.

Chichester C. O. și col. (22), Mackinney G. (7) au propus o schemă generală de formare a carotenoizilor (carotenoidelor) în 3 etape : în — I etapă are loc formarea unei substanțe intermediare, numită precursor (fitenul), care este comună tuturor mecanismelor ulterioare de sinteză ;

— în etapa a II-a se formează, din o parte a precursorului, compușii alifatici și compușii alchilici. În această etapă, fitenul și fitofluenul sînt precursorii carotenoizilor de natură alifatică ;

— în etapa a III-a se formează carotenoizii de natură alchilică pe o cale independentă.

Tot în această perioadă, J. Rabourn (8) postulează o teorie de unificare a biogenezei conform schemei din fig. 2. Această teorie diferă în ultimele stadii de schema originală și anume, de la zetacaroten căile

ulterioare urmează direcţii diferite care duc la licopen, γ—caroten şi β—caroten. Neurosporenul este considerat a fi $C_{40}H_{58}$, iar studiile de rezonanţă magnetică nucleară arată că el are formula unui dihidrolicopen.

Existenţa în sursele naturale ale multor pigmenţi minori, în general în mică cantitate, poate găsi o explicaţie în schema lui J. Rabourn din fig. 2.

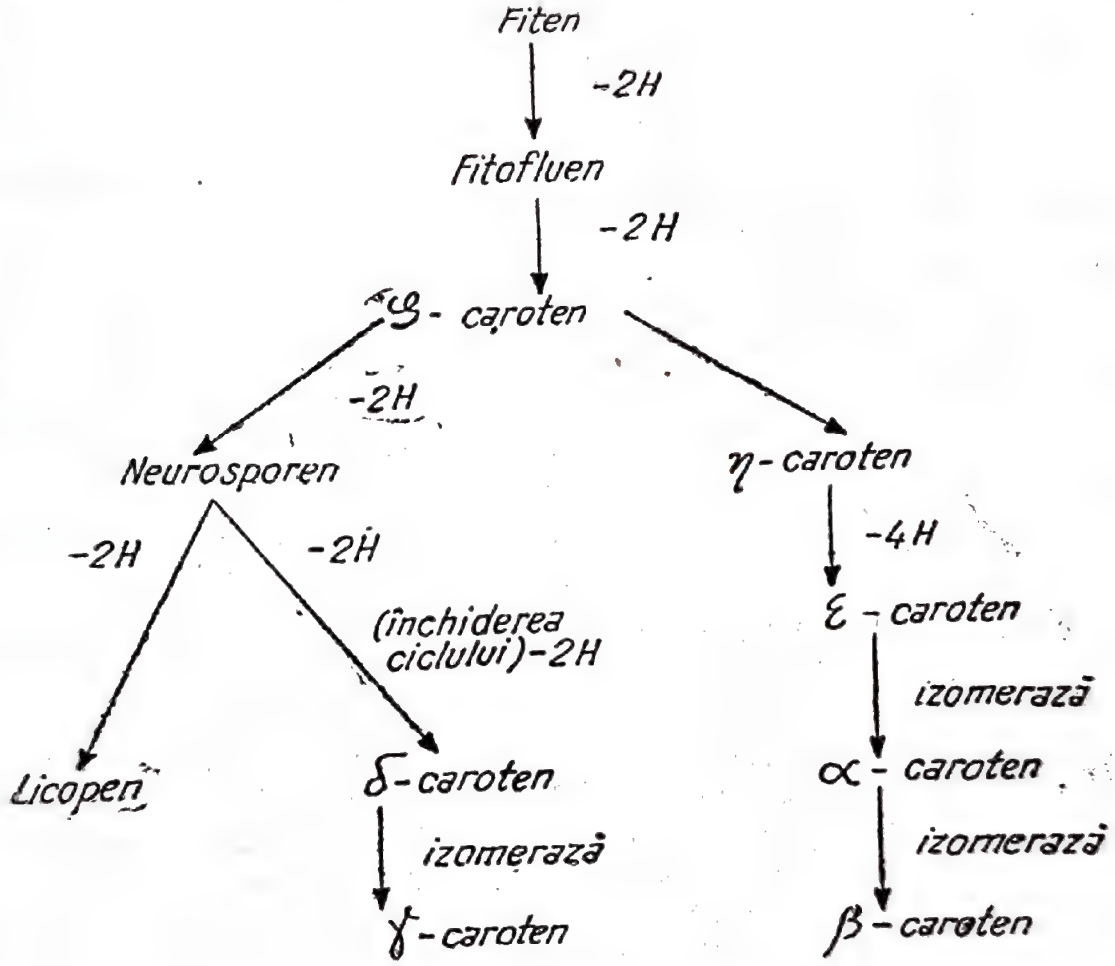


Fig. 2 — Biogeneza carotenilor după J. Rabourn.

Pigmenţii minori, care sînt în cantităţi mici, pot fi extrem de activi din punct de vedere metabolic.

Analizele cantitative au stabilit relaţia care există între ei, pe baza cantităţii de acumulare şi a diferenţelor dintre caracterele structurale ale diverşilor pigmenţi.

O serie de agenţi chimici, cu rol energetic şi biocatalizator, ca : adenozin monofosfatul, metil-hepatona, difenilamina, β-ionona au efect stimulator asupra carotenoizilor alchilici şi a celor alifatici.

Alte substanţe ca : $FeSO_4$, thiamina, ergosterolul, glicerolul şi biotina au fost, de asemenea, folosiţi pentru a modifica formarea poliemelor.

De asemenea, cercetările lui M. Zalokar au arătat că lumina și oxigenul au un efect stimulator asupra carotenogenezei fungilor.

J. Claes, folosind ca mutant alga Chlorella, a putut stabili condițiile de biosinteză a carotenoizilor, precum și cele de biosinteză a xantofilelor, ajungînd la concluzia că mutanții de Chlorella, crescuți în aerobioză, dar la întuneric, produc precursori de caroten ; cînd sînt însă iluminați cu lumină roșie în anaerobioză, precursorii de caroten se transformă în 3 caroteni : α, β, și γ—caroten. Aerația ulterioară în întuneric a produs xantofile, care nu sînt altceva decît carotenoizi oxigenați de culoare galbenă.

O serie de cercetări (9) au arătat că formarea vitaminelor A_1 și A_2 se face prin conversia β—carotenului.

1.3.1. Surse de caroteni

1.3.1.1. *Din vegetale.* La plantele verzi, alături de clorofilă, carotenoizii se sintetizează în cloroplaste, în cantități variabile, în funcție de stadiul de vegetație al plantelor. Tot în cloroplaste se găsesc și xantofilele, alături de carotenoizi, la plantele ținute în întuneric sau la frunzele veștede.

Xantofilele cuprind hidroxicarotenoide, aldohidroxi-, cetohidroxi- și cetocarotenoide.

La plantele superioare raportul dintre carotenoizi și xantofile variază mult, de la 1 : 1 pînă la 1 : 15. Aceștia se mai găsesc în ciuperci, bacterii și în organismul animal, dar sînt de origine vegetală.

Cantitatea de β-caroten în frunze este mai mare decît cea de α-caroten, fiind apreciată la 200—700 γ/g de frunză uscată ; α-carotenul se găsește într-o proporție de circa 35% din totalul carotenoidelor. Xantofilele sînt într-o proporție mai mare însă, în afară de criptoxantină și azoxantină, ele nu constituie provitamine A. În limbul frunzelor proporția de carotenoizi este de circa 5—50 ori mai mare decît în restul frunzelor. În timpul iernii conținutul carotenoizilor din frunze și legume scade ; aceeași micșorare apare și cînd legumele sînt supuse uscării pentru păstrare.

Carotenii provitaminici sînt prezenți în majoritatea polenurilor, în diferite proporții, variind cantitativ, după specie, în plantă ; astfel, s-a găsit la planta Tropeolum mayus (călțunași) (tabelul 1).

În polenul de ceapă, 1,7—2,9 mg/100 g polen, după cum menționează Krylova M.I. și Gengher S.

În polenul de trandafiri carotenii reprezintă 0,76 % la specia Rosa damascena, 2,08% la specia Rosa alba, 1,67% la Rosa gallica.

Carotenii din polenul de păpădie, prun și măr au fost găsiți în cantități variind de la 50—150 μg/g.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1

Carotenii din polenul Tropeolum mayus

	Cantitatea mEg/g	%
α — caroten	540,0 mEq/g	30
β — caroten	453,9	25,1
γ — caroten	311,9	17,3
δ — caroten	69,6	3,8

Carotenii din polenul cules de albine de la diferite plante au fost, în medie, de 47 μg/g polen, față de 143 μg/g xantofile/g polen uscat.

β—carotenul predomină în polen, iar carotenii provitaminei au un rol însemnat în procesul de fecundație al plantelor.

Fructele conțin, cînd sînt verzi, foarte puțin β și α-caroten ; ele, pe măsură ce se coc, se îmbogățesc în caroten și repartiția acestuia este mai bogată în epicarp decît în pulpa fructului. De exemplu, bananele au de 5 ori mai mult, iar perele de 6 ori mai mult în coajă decît în pulpă.

Morcovul (Daucus carota) este foarte bogat în caroteni (60—100 μg/g morcov proaspăt) (10) ; cartoful nu conține decît urme, în schimb se găsesc xantofile. Dintr-o tonă de morcovi se poate obține circa 30 g de β-caroten. În cereale (secară, grîu) se găsesc 130—150 γ/100 g ; în făina de grîu albă, cantitatea de carotenoizi scade pînă la dispariție, în raport cu mărimea particulelor de făină. Porumbul conține criptocaroten, β-xantină și α-xantină. La majoritatea algelor se găsește în cantități mici α- și β-caroteni ; ele conțin mai multă fucoxantină, care nu are valoare provitaminică.

Fructele de Hippophae ramnoides (cătină albă) au un conținut bogat în carotenoide, predominînd xantofilele cu structură α și β-iononică. Din fructele coapte, s-a extras uleiul, care conține carotenoide (11).

Tabelul 2

Carotenoide din uleiul de Hippophae ramnoides (11)

Carotenoide	μg/g	Carotenoide	μg/g
α — carotină	2,18	Izocriptoxantină	14,82
β — carotină	96,45	β — criptoxantină	162,89
Neo— β — carotină	16,61	Luteină	54,81
γ — carotină	56,90	Zeoxantină	80,38
γ — carotină	22,45	Licopină	14,65
Flavoxantină	8,29	Violaxantină	15,76

Scanned with OKEN Scanner

La extragerea carotenilor se folosesc plantele verzi: morcovul, lucerna, urzica, uleiurile vegetale precum și substanțe care iau apa din masa verde (alcoolul, Na_2SO_4 anhidru, Na_2CO_3 anhidru), întrucît aceasta stînjenește extragerea carotenoizilor și solvirea lor în solvenții organici (benzen, acetonă, eter de petrol etc.)

Pentru om, cea mai mare sursă de caroten o formează următoarele alimente de natură vegetală (12, 13, 14) — (tabelul 3)

Tabelul 3

Cantitatea de caroteni din alimente vegetale proaspete

	media mg %		media mg %
Ardei gras	8—25	Spanac	13—14
Ardei kapia	25—35	Tomate	6,5—12
Gogoșari	23—25	Agrișe	0,1—0,2
Fasole verde	0,1—0,2	Banane	6,8—8,3
Morcovi	7—18	Caise	1,2—4,2
Pepene verde	3—4	Mazăre verde	0,2—0,4
Ridichi	1,5—2	Dovleac cantalup	0,2—0,8
Salată	3—6		

Ceapa, castraveții, ca și unele fructe (mere, pere, nuci, struguri, alune, prune, piersici, cireșe, măceșe, zmeură, fragi, lămîi, portocale, ananas, grapfruit, mure) conțin caroteni între 0,1—0,5 mg%.

Modificarea conținutului în pigmenți carotenoidici din legume și fructe în timpul păstrării lor se datorează unui proces oxidativ. Astfel, la morcovi, după 120 zile de păstrare la 0°C, conținutul în caroteni scade de la 18 mg%/g produs proaspăt, la 13,4 mg %/g produs.

1.3.1.2. *Din lichide și țesuturi animale.* Animalele își procură cea mai mare cantitate de caroteni prin hrană. Experimentările făcute de Matilda Jitariu (15) — publicate în 1982 — pe ouăle de insecte (colorado), pești (Salmo, Cyprinus) și găini (Gallus) au demonstrat că celulele animale au posibilitatea să sintetizeze carotenoide la fel ca și celulele vegetale.

În cursul embriogenezei, autoarea a observat la cele trei tipuri diferite de ouă o intensă participare a carotenoidelor. Participarea se efectuează prin schimbarea configurației spațiale a moleculelor carotenoidelor, mai ales forma „cis" în „trans", cu eliberarea de energie.

Animalele pot să acumuleze și să depoziteze carotenii absorbiți din hrană, în diferite organe și țesuturi, precum să le și transforme în carotenoide proprii, diferite de cele din hrană.

Carotenii se găsesc fie în stare liberă, fie dizolvată în țesutul adipos (subcutanat, în cel din jurul organelor interne, icre etc.) sub formă de

complexe caroteno-lipoproteice, şi foarte puţin sub formă de cristale (solzi, pene, ciocul păsărilor etc).

Crustaceele (raci, homari, crabi, languste, creveţi etc) sînt vieţuitoare acvatice cu cel mai mare depozit de carotenoide.

Peştii conţin caroteni luaţi prin hrană din biomasa acvatică ; ei nu pot biosintetiza novocarotenoidele, care sînt localizate în piele, carne, gonade, lapte, ficat, ochi, solzi etc. La majoritatea peştilor predomină calitativ şi cantitativ ceto-şi cetohidroxicarotenoidele cu structură hexaciclică β-iononică.

Păsările conţin carotenoizii în măsura existenţei acestora în hrană. Pigmenţii carotenoidici se depun în pielea capului, pene, gălbenuşurile de ou, ficat, ţesutul subcutanat etc.

Sub aspect structural, la păsări predomină carotenii cu structură β-iononică.

Mamiferele conţin carotenoide cu structură α şi β-iononică.

Pigmenţii principali sînt în sînge, ficat, ţesut adipos şi alte ţesuturi. Concentraţia în sînge, în general, este de 100—300 micrograme/100 ml sînge (13). În ficatul bovinelor se află aproximativ 2 mg/kg carotenoide, predominînd β-carotenul.

Ţesutul muscular este, în general, sărac în caroteni, în muşchiul inimii nu s-a putut identifica (14).

Laptele de vacă conţine iarna 0,014 mg/100 ml—0,016 mg/100 ml, iar vara pînă la 0,070 mg/100 ml. În smîntînă şi în unt cantitatea este de 3—5 ori mai mare. În brînza telemea grasă de oaie 0,72 mg/100 g, iar în caşcaval, şvaiţer de 0,18 mg/100 g (11).

În gălbenuşul de ou al păsărilor domestice, carotenii variază între 1—4 mg/100 g gălbenuş, cu predominanţă xantofile (luteină, zeaxantină). Cantitatea variază în raport cu alimentaţia bogată în carotenoide. În ţesutul adipos al păsărilor, carotenii pot fi peste 100 mg/100 g ; în pielea corpului, cantitatea este pe jumătate faţă de cea din ţesutul adipos (11).

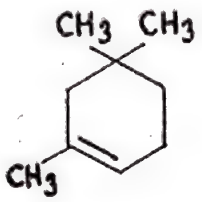
Dintre caroteni, β-carotenul are activitatea biologică cea mai mare, de aceea a fost luat ca etalon la stabilirea indicilor de activitate biologică şi valoarea lui a fost considerată egală cu 100 (12) :

β-caroten	100	neo-β-caroten	38
α-caroten	50	xantofilă	0
γ-caroten	30	licopen	0
criptoxantina	55		

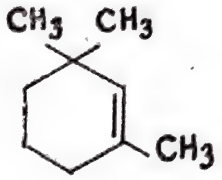
H. Yokoyama şi col. (54, 56), în experimentările efectuate cu leucină, marcată C^{14} pe Phycomices, au demonstrat că aceasta participă la biosinteza carotenoizilor.

În biochimie, farmacie şi medicină interesează îndeosebi acei carotenoizi ale căror lanţuri polienice au suferit o ciclizare la una sau ambele extremităţi ; ciclul astfel format este ionona. În formulele de mai jos

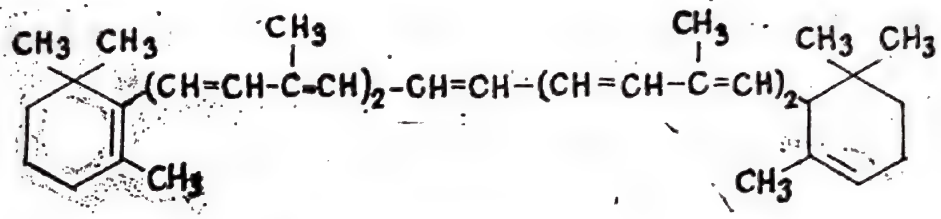
se pot vedea structurile carotenoizilor cu rol de provitamine. Ei sînt legați, din punct de vedere structural, de licopen; astfel α-carotenul poate fi considerat un licopen care are la un capăt un ciclu de α-iononă iar la altul de β-iononă, în timp ce β-carotenul are două cicluri β-iononice, iar γ-carotenul are numai un grup β-iononic terminal.



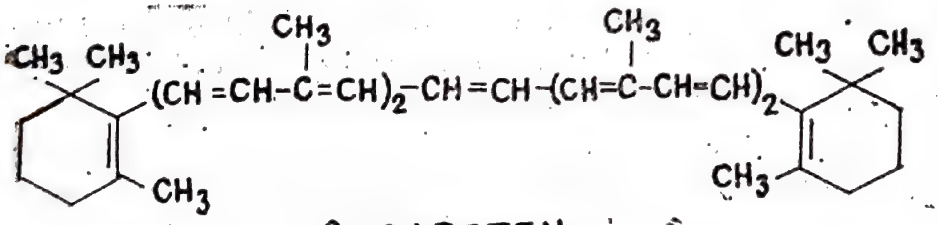
α – IONONA



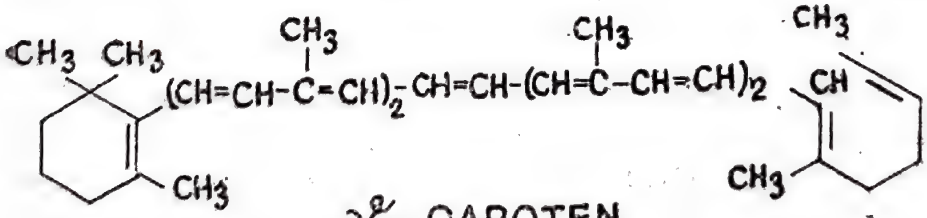
β – IONONA



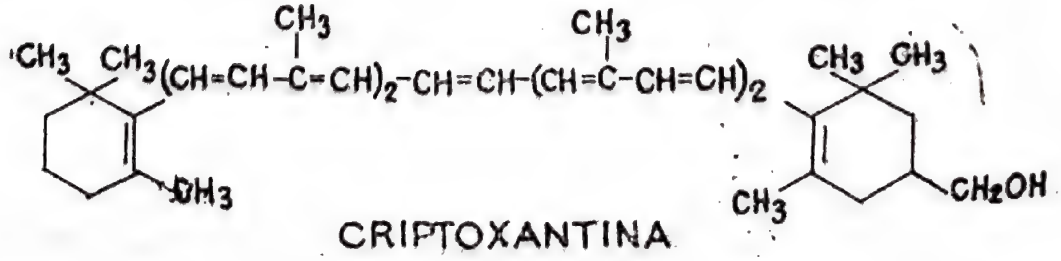
α – CAROTEN



β – CAROTEN



γ – CAROTEN



CRIPTOXANTINA

1.4. Proprietățile fizico-chimice ale carotenilor

Sînt compuși solubili în grăsimi și insolubili în apă ; culoarea variază de la galben-portocaliu la roșu-violet ; aceasta în funcție de prezența dublelor legături.

Carotenii se oxidează cu ușurință, fapt ce impune a fi feriți de contactul cu oxigenul și lumina. După gradul de puritate, atît în starea cristalină cît și în soluție, carotenii se transformă, prin oxidare, mai repede sau mai încet, în produși incolori, datorită ruperii catenei laterale.

D. Bedeleanu și I. Manta (16) relatează că C. Bodea și col. (1984) menționează că în celulele vegetale există intermediari carotenici care rezistă la autooxidare — denumiți epoxizi — și care pot ceda oxigenul unui acceptor, de exemplu acidului ascorbic; epoxizii au un rol determinant în procesele de oxido-reducere.

Carotenoidele prezintă un mare număr de steroizomeri datorită configurației cis-trans la duble legături conjugate. Stereoizomerii se pot diferenția prin spectrul de adsorbție ; ei se separă prin metoda cromatografiei pe coloană, întrucît au viteza de difuziune diferită și pot fi adsorbiți la niveluri diferite de substanțele adsorbante cu care se umple coloana.

Redăm sumar caracteristicile celor mai importante provitamine.

1.4.1. **α-carotenul** poate să cristalizeze dintr-un amestec de metanol și benzen sub formă de prisme cu o coloratie arămie, care prin uscare capătă o coloratie roșie-închis-violet. Se solvă ușor în solvenți organici, soluțiile avînd colorații diferite în raport cu solventul : de exemplu, sînt roșii cînd solventul este sulfură de carbon și galben-verzui cînd solventul este eterul etilic.

De asemenea, se solvă ușor în grăsimi, uleiuri și este foarte greu solubil în alcool absolut. Are punctul de topire la 188,5°C, se distruge foarte greu prin încălzire, însă este foarte ușor distrus de acizi și oxigen.

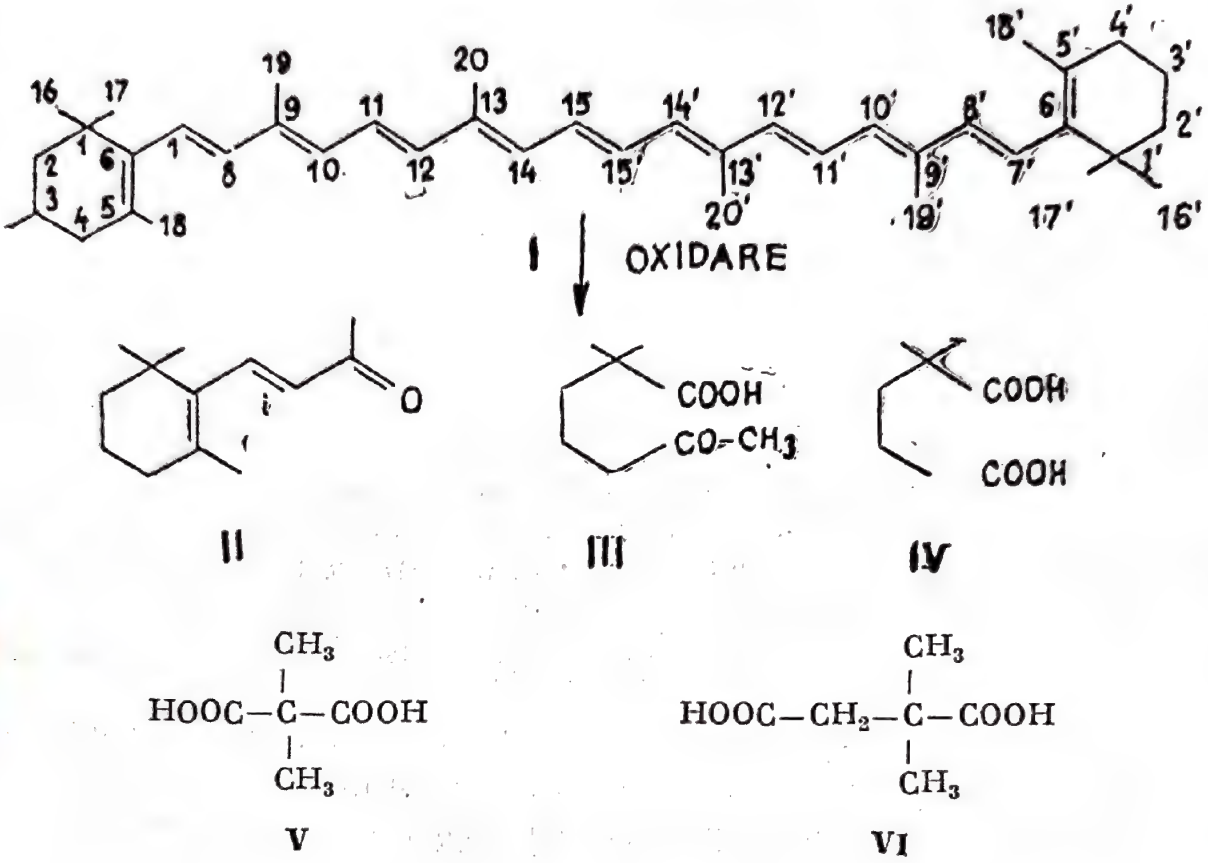
1.4.2. **β-carotenul** cristalizează, din același amestec de solvenți ca și α-carotenul, sub formă de tablete colorate violet închis. Se mai deosebește de α-caroten prin faptul că este optic inactiv, iar punctul de topire este de 184°C. O cantitate apreciabilă de β-caroten (90%) se găsește în morcovi, în amestec cu α-caroten 1 % și cu γ-caroten 0,1 %, fapt demonstrat de Kuhn în 1931.

În 1928, Zechmeister L. a demonstrat natura polienică a β-carotenului.

P. Karrer, Kuhn I. și col. au clarificat, în 1929 — 1934, structura β-carotenului (I) ($C_{40}H_{56}$), prin descompunerea lui, folosind oxidarea în trepte cu $KMnO_4$, ozon și Cr_2O_3.

La produsele de oxidare s-au găsit : β-ionină (II), acidul α-dimetilglutamic (IV), acidul geronic (III), acidul dimetilmalonic (V), acidul

dimetilsuccinic (VI), acidul acetic, partea laterală fiind formată din 4 unități izoprenice.



I II III IV

V

VI

1.4.2.1. *Sinteza β-carotenului.* Kuhn Y. și col. au stabilit, în 1934, formula structurală pentru β-caroten (I), ceea ce Karrer, în 1950, a reușit să demonstreze prin sinteză.

P. Karrer și W. Inhoffen au lucrat, în perioada 1950—1951, la sinteza β-carotenului. Aplicarea acestei sinteze în industrie s-a făcut în 1956, folosind diverse produse intermediare. De ex. β-iononcetona C_{13} (I).

1.4.3. **γ-carotenul** are un sistem de cristalizare aciform, înmănunchiat sub formă de snopi, cu punctul de topire la 178°C ; cu ajutorul unui amestec de alcool și CS_2 poate cristaliza dintr-un extract de carotenoizi.

1.4.4. **Criptoxantina** este foarte răspîndită în țesuturile vegetale în care, împreună cu β-carotenul, formează peste 30% din cantitatea totală a pigmenților vegetali ; a fost identificată drept 3-hidroxi-β-caroten.

Se găsește în porumbul de culoare galbenă, formînd o sursă de provitamină A pentru cei care-l consumă.

Prezintă benzi caracteristice de absorbție : în benzen acestea sînt la 485, 452, 424 nm, iar în CS_2 la 520, 484, 452 nm.

1.5. Dozarea carotenilor

Determinarea cantitativă a carotenoizilor din alimentele vegetal se face, în mod obișnuit, fotocolorimetric (440 nm), după ce s-a efectuat extragerea și purificarea lor.

Dozarea carotenilor din sînge se face concomitent cu a vitaminei A, avînd ca principiu extragerea din ser cu eter a ambelor substanțe, după ce a avut loc un proces de saponificare cu o soluție alcoolică de KOH. Determinarea carotenului se face direct, fotocolorimetric, dintr-o soluție cloroformică, iar cantitatea de vitamină A se măsoară fotocolorimetric (620 nm), după intensitatea culorii albastre ce apare la tratarea cu clorură de antimoniu.

1.6. Absorbția și conversia carotenilor

Mamiferele își procură carotenii din hrană nefiind capabile să le biosintetizeze.

Absorbția carotenilor se face la nivelul intestinului subțire, în mod diferit, în raport cu specia animală. Dintre mamifere, omul are cea mai mare putere de absorbție a carotenilor din hrană, atît calitativ, cît și cantitativ. Metabolismul carotenoidic la om este asemănător cu cel al maimuței, pe cînd la alte animale procesul de absorbție se produce diferit ; de ex., capra nu absoarbe carotenoizi și nici xantofile, pe cînd vaca acumulează numai carotenoizi și elimină xantofilele, iar păsările depozitează mai ales xantofilele cu structură α- și β-iononică, predominînd cele β-ionononice.

La om, absorbția carotenoizilor se face în mod lent și nu în totalitate: o parte sînt distruși în peretele intestinal, iar altă parte sînt eliminați prin fecale.

Pentru o bună absorbție a carotenoizilor este absolut necesară prezența lipazei intestinale și a bilei care emulsionează și, sub această formă, sînt absorbiți. Lipaza pancreatică are un rol și mai activ decît bila. Grăsimile comestibile măresc puterea de resorbție a carotenilor.

Cercetările (15) au arătat că valoarea concentrației carotenului în ser depinde de cantitatea de proteine alimentare (fig. 3).

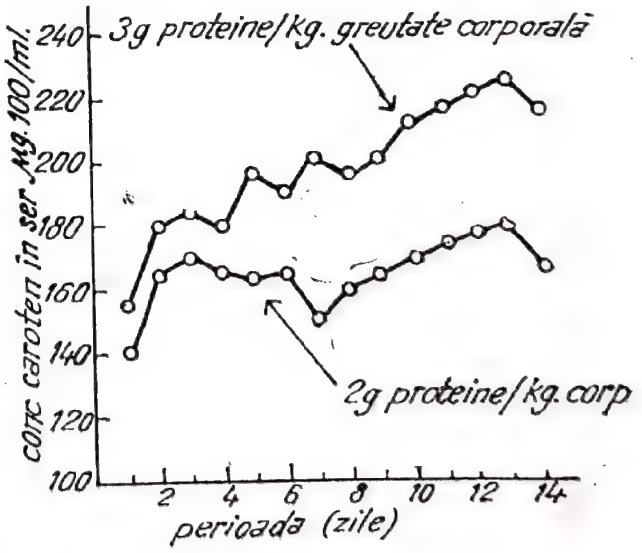


Fig. 3 — Concentrația comparativă a carotenului din ser în raport cu cantitatea de proteine din hrană (fiecare punct reprezintă concentrația medie din ser).

Scanned with OKEN Scanner

Uleiul de parafină micșorează resorbția atît a vitaminei A, cît și a carotenilor ; aceștia, dizolvîndu-se în ulei, sînt eliminați prin fecale. O parte din carotenii resorbiți sînt depozitați în ficat, mai ales în celulele Kupffer. Carotenemia la omul normal diferă după sex ; T. Moore, după multe determinări, ajunge la concluzia că, pentru carotenoidele totale, media la femeie este de 71 μg/100 ml ser, iar la bărbat, 56,6 μg/100 ml ser. În timpul sarcinii, și în special al alăptării, valorile sînt mai mici întrucît prin colostru o mare cantitate de caroten este transmisă și nou-născutului. Carotenemia nou-născutului este în medie de 23 μg/100 ml ser.

Urmărindu-se afinitatea dintre carotenoizi și proteinele plasmatice la om, E. M. Croock și M. K. El Marsafy (17) au găsit următoarele valori: β-globuline 50%, albumine 20%, α_2-globuline 10% și α_1-globuline 6,7% ; autorii menționează că γ-globulinele nu se combină cu carotenii.

Această afinitate a carotenoizilor față de elementele proteinelor plasmatice diferă după specie ; de ex., T. Erwin și col. găsesc la bovine afinități diferite față de om : pentru albumine 70%, α-globuline 6,8%, β-globuline 8,9% și γ-globuline 9,2%. La această specie lipsa de caroten din hrană poate duce la o scădere de 50% în concentrația acestora din plasmă și, concomitent, la capacitatea de legare a carotenului, întrucît proteinele transportoare sînt scăzute.

În timpul alimentației bogate în vegetale ce conțin mulți carotenoizi se va afla și o carotenemie crescută, denumită hipercarotenemie, care se manifestă printr-o colorare în galben a pielii palmelor și plantelor. Această stare, denumită xantoză cutanată, provoacă și perturbări metabolice și poate apare și în cursul unor maladii ca tuberculoza pulmonară, diabet, mixedem, afecțiuni lipoidice, cînd scindarea carotenilor este tulburată. În plasma umană carotenoizii sînt legați de β-globuline ca și axeroftolul (vitamina A).

Unii autori (16) menționează că are loc conversia carotenului în vitamina A, la nivelul intestinului, întrucît experimentările pe șobolani au arătat că, la animalele private de vitamina A timp de două săptămîni, după administrare de caroten, s-a decelat vitamina A în cantități mai mari în peretele intestinal decît în ficat, splină, retină, corp galben, măduvă osoasă.

Carotenul, introdus pe cale intravenoasă, este rapid convertit în vitamina A, după cum a dovedit-o apariția acesteia în sînge, ficat și rinichi.

O serie de cercetări au arătat că hidrocarburile care au 41C, 42C, 46 C posedă o acțiune biologică analogă cu a vitaminelor A. De asemenea, sinteza carotenului 3, 4-monodehidro- și 3, 4, 3', 4'-dehidro-β-caroten a demonstrat, experimental, că au activitate biologică într-o proporție de 75 și, respectiv, 34%din activitatea β-carotenului; în creșterea șobolanilor o activitate de 10% din activitatea β-carotenului a prezentat-o și complexul dezoxiluteina (3-hidroxi, 3-dehidro-β-carotenul).

Scanned with OKEN Scanner

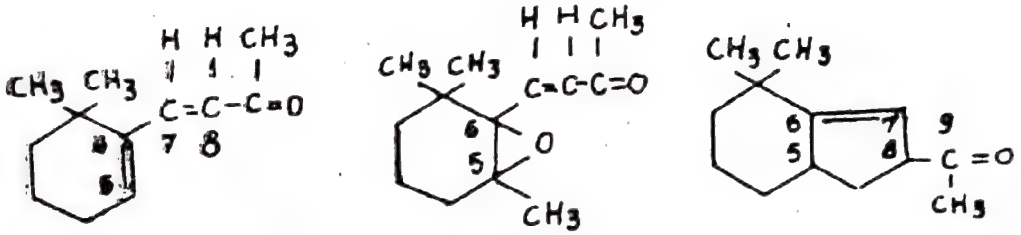
Lucrarea lui P. Moatti (19) asupra formării vitaminei în peștele Gambusia holbrookii arată că în acest organism astaxantina este o provitamină A ; la aceeași concluzie ajunge și R. Grangaud.

Rezultate asemănătoare au fost găsite și în peștele roșu (Crassius auratur), însă cele mai multe cercetări demonstrează că vitaminele A (A_1 și A_2) sînt formate din β- caroten, întrucît acesta a fost găsit ca un compus intermediar în timpul conversiei carotenoizilor în vitamine A.

H. Goldsmith (20) a semnalat prezența vitaminelor A și enzimei retinenreductazei în capetele albinelor.

Pentru ca un carotenoid să fie transformat în vitamina A trebuie să existe următoarele condiții :

a. să posede un ciclu β-iononic nesubstituit ; în asemenea condiții, β-carotenul produce 2 molecule de vitamină A, pe cînd α-carotenul, γ-carotenul, criptoxantina, cîte o singură moleculă. Sînt și unele excepții : de exemplu, prin introducerea oxigenului la 56-epoxi, β-carotenul pierde proprietatea provitaminică, pe cînd la 5—8-epoxi, β-carotenul nu pierde această proprietate ;



b. să existe o succesiune alternativă între legăturile simple și cele duble ale lanțului aciclic iar acesta să nu fie scurtat în prima parte a lui ;

c. carotenoizii să posede configurația trans a lanțului lateral ; excepție face γ-carotenul, care este activ provitaminic, cu toate că posedă configurația cis ;

d. să fie 4 grupări metilice substituite la 4 grupări metenice-CH= ;

e. să existe un rest etilenic -CH=CH- care se scindează hidrolitic în procesul de trecere de la polivitamină la vitamina A.

Carotenoizii, ca și vitamina A, pot exista sub mai multe forme steroizomere. Izomeria intervine în lungimea lanțului moleculei, atomii fiind în forme fizice de aranjare diferite; în fiecare izomer, bioechivalențele mai multor izomeri carotenoizi majori sînt arătate în tabelul 4; aceste valori au fost determinate prin experimentări pe șobolani. Întrucît alte specii au posibilitatea biochimică mai mică de transformare a carotenilor, valorile găsite au fost mult mai scăzute la păsări, porci și rumegătoare. Toate valorile sînt exprimate în procentaj al valorii trans-β-carotenului.

Datele ilustrează, în tabelul de mai jos, activitatea scăzută a altor caroteni care fac parte din cis-izomeri.

Tabelul 4

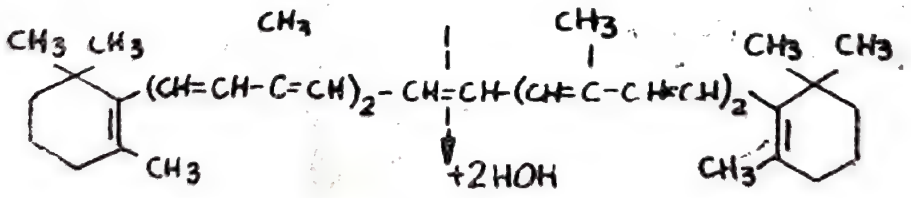
Biocchivalențele relative ale izomerilor carotenilor (șobolani) (21)

Carotenii	Al-trans-izomer	Mono-cis-izomer
β — caroten	100 %	38 %
α — caroten	53 %	13 %
γ — caroten	42 %	19 %
Criptoxantină	57 %	27 %

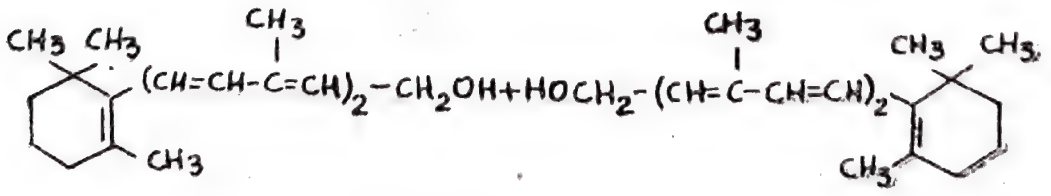
O dată cu alimentele, carotenii ajung la nivelul peretelui intestinal. În peretele intestinului subțire, carotenii suferă procesul de conversie sub influența enzimei, 15, 15' caroten oxigenaza (78-80). Acțiunea acestei enzime necesită prezența oxigenului molecular (pentru 1 ml caroten este necesar 1 ml oxigen) și a sărurilor biliare ; în plus, efectivitatea procesului de conversie depinde și de alți factori, ca : steroizomerizarea carotenilor, sursa alimentară, modul de administrare, nivelul de absorție, conținutul în proteine al dietei, activitatea unor hormoni, prezența altor vitamine sau antibiotice etc. (20).

Carotenii, sub influența enzimei, suferă transformări din care rezultă, în final, una sau două molecule de retinal sau retinen. Sub acțiunea alcooldehidrogenazei (reductazei), retinalul se reduce la trans-total-retinal, care este vitamina A_1. Are loc, astfel, scindarea dublei legături etilenice din centrul catenei polienice și adiția la punctele de scindare a două molecule de apă.

Din carotenele asimetrice nu rezultă decît o singură moleculă de retinol.



β-CAROTEN



VITAMINA A_1

Nu toate speciile animale au posibilitatea de a transforma în aceeași măsură carotenii în vitamina A. De ex., puii, porcii, bovinele sînt mult mai puțin eficace la conversia carotenului. Fiecare din aceste specii au nevoie de cantități mult mai mari de caroten pentru a obține aceeași activitate vitaminică A.

În tabelul 5 redăm posibilitatea de conversie a carotenului în vitamina A, pentru unele specii de animale.

Tabelul 5

Conversia carotenului în vitamina A_1 (14)

Micrograme de trans-β-caroten echivalemt în unități de vit. A_1	
Specia	μg/unitate
Șobolani	0,6
Pui broiler	1,0
Porci	1,8
Oi	1,8—2,4
Cîini	1,0
Cai	3,6

Capacitatea transformării carotenului în vitamina A la pisică este aproape nulă.

Aceste date provin din publicațiile date de „National Research Council", la care au echivalat conversia carotenilor bazați pe β-carotenul trans de puritate teoretică.

1.7. Unități de activitate

Activitatea vitaminei A se exprimă prin unități internaționale (UI). 1 UI corespunde la 0,344 μg acetat de vitamină A_1 pură, 0,3 μg vitamină A (retinol) pură, la 0,55 μg de al-trans-vitamină A palmitat pură sau 0,6 μg β-caroten (USP-Farmacopeea Statelor Unite).

1 g de vitamină A_1 (retinol) conține $3{,}33 \cdot 10^5$ UI.

Concentrația în unități gama se obține înmulțind numărul de unități internaționale cu 0,3.

Necesarul zilnic de vitamină A poate fi furnizat sub formă de caroteni și 1/3 de vitamina A.

Raportul între 1 UI vitamina A și 1 UI β-caroten este de 1 : 2. β-carotenul este substanța de referință pentru provitaminele A.

1 g caroten cristalizat = 1 670 000 UI.

1 g vitamina A_1 pură = 4 500 000 UI (22).

Farmacopeea europeană (23) menționează că 1 UI vitamină A = 0,359 μg propionat de retinol sau = 0,550 μg palmitat de retinol.

Scanned with OKEN Scanner

1 μg de β- caroten este echivalent cu 0,16 μg retinol.

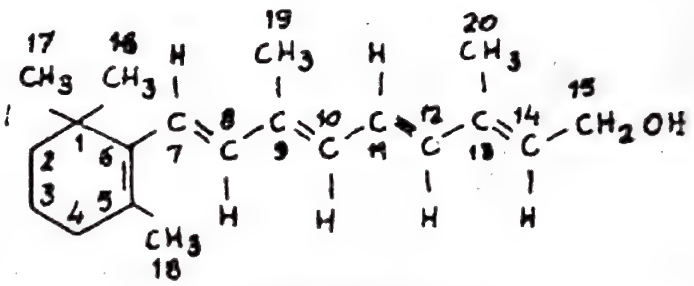
Observații. În organism, β-carotenul, solubilizat cu polisorbat 80, este transformat mai ușor în vitamina A de enzimele organismului.

1.8. Retinol (vitamina A_1)

Această vitamină a mai fost denumită, după unele acțiuni fiziologice: vitamină antixeroftalmică (axeroftol), vitamină de apărare a epiteliilor, vitamină de creștere liposolubilă; de asemenea, a fost denumită, impropriu, și vitamină antiinfecțioasă, crezîndu-se că prezintă asemenea proprietăți.

În 1931, P. Karrer a obținut, din ulei de ficat de pește, un concentrat de vitamină A cu ajutorul căruia a pornit la clarificarea structurii.

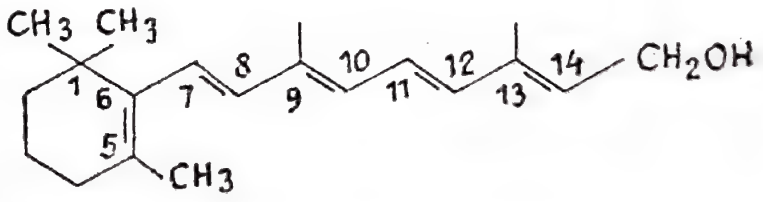
Abia în 1940, G. Baxter și D. Robeson au reușit să separe vitamina A cristalizată din produse naturale.



VITAMINA A_1

Formula brută este $C_{20}H_{30}O$, iar formula structurală (1,1,5-trimetil-6-(15-hidroxi-9, 13-dimetil-nona-7, 9, 11, 13-tetraenil)-ciclohexen 5); se prezintă astfel:

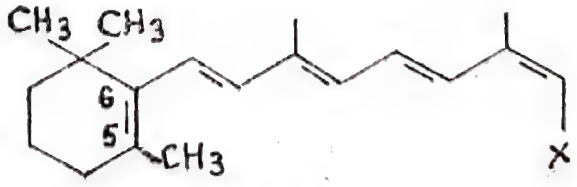
1.8.1. **Aspecte stereochimice.** Din formulă se observă că prezintă 5 legături duble (-HC=CH-) conjugate și 3 grupări CH_3-C= în ciclu, în pozițiile 1, 1, 5; are 2 grupări metil în catena laterală la C_9 și C_{13}, un ciclu β-iononic și o funcție de alcool primar terminală în poziția trans la C_{15}.



RETINOL (A11 -TRANS)
(VITAMINA A1)

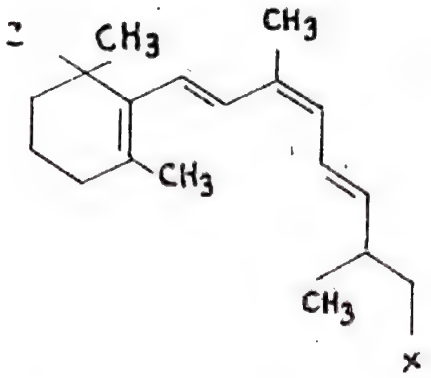
Teoretic, s-ar putea să existe 32 forme stereoizomerice. Din 32 stereoizomeri posibili ai retinolului se cunosc 6, care au putut fi sintetizați și izolați din alcoolii corespunzători, prin oxidare.

Existența formelor „cis" în natura pare a nu fi frecventă.

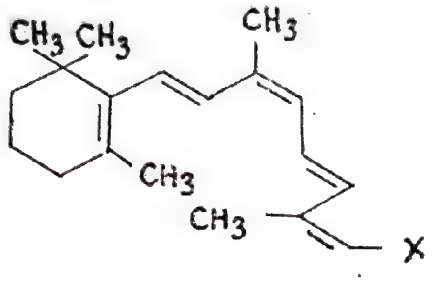


13 - CIS - RETINOL
(NEOVITAMINA Aa)

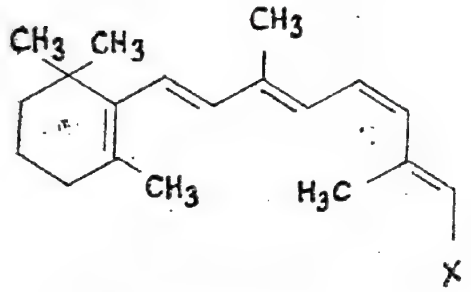
Aldehida retinolului se numește retinal și are un rol însemnat în procesul vederii.



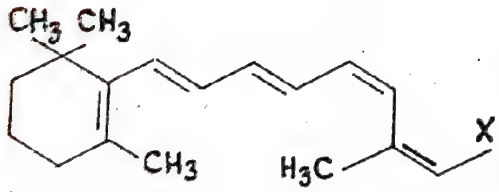
9-CIS-RETINOL
(IZOVITAMINA A_3)
(IZORETINEN b)



9,13-DICIS-RETINOL
9,13-DICIS (ISO-b)
(IZOVITAMINA Ab)

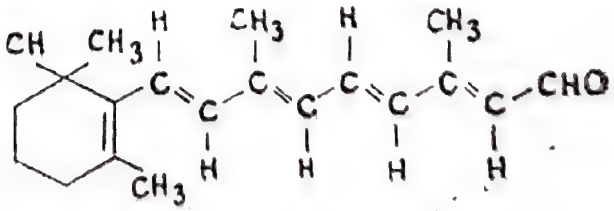


11-CIS-RETINOL
11-CIS-(NEO-b)
(NEOVITAMIN Ab)
(NEORETINEN b)



11,13-DICIS-RETINOL
11,13-DICIS-(NEO-C)
(NEOVITAMIN Ac)
(NEORETINEN c)

1.8.1.1. *Activitatea biologică a izomerilor.* Toți izomerii altrans manifestă o înaltă activitate biologică. Retinolul, utilizat în forma chimică pură, ca standard internațional este desemnat cu o valoare biologică de 100%, și constituie etalonul de referință standard. Toți ceilalți izomeri manifestă o activitate biologică de vitamină A_1 scăzută. Cercetările efectuate asu-



RETINAL

pra activității lor farmacodinamice s-au făcut pe șobolani standard.

Valoarea biologică actuală a fiecăruia din izomerii cunoscuți ai vitaminei A este redată în tabelul 6.

Se poate observa cu ușurință, că o combinație a izomerilor, ca de ex. all-trans cu tipurile 9- și 11-cis va avea ca rezultat un amestec cu activitate biologică în vitamină A_1 mai scăzută.

Tabelul 6

Biopotența relativă a izomerilor acetat ai vitaminei A (Ames S.R.)

Izomer	Activitatea (UI/g)	Biopotența
all-trans	2.904.000	100 %
13-cis (neo-A)	2.190.000	75 %
(Izotretinoin) 9-cis — 0-cis	607.000	21 %
9,13-di-cis	688.000	24 %
11-cis	690.000	24 %
11,13-di-cis	428.000	15 %

De asemenea, o serie de studii (Ames S. R.) sugerează că biopotența 13-cis-vitamina A (neo-A) este mai mică cu 25% față de retinol (tabel 6). Acești cercetători, prin determinările depozitelor din ficat, găsesc valori de 66% la șobolani și numai de 50% la pui. Ei evidențiază importanța acestor cercetări avînd în vedere utilizarea cîtorva alimente suplimentare cu ulei de pește, care conține, în mod natural, cam 30% din izomerii 13-cis. În plus, uleiurile de pește au, de asemenea, o concentrație în jur de 19—20% din izomerii activi 9-cis și 9,13-di-cis.

1.8.2. **Sinteza vitaminelor A.** În perioada anilor 1946—1948 au fost efectuate sinteze complete a vitaminelor A, precum și a esterilor lor, de către Isler, Miles, Karrer, Cawley și alții, care au confirmat formula structurală stabilită de P. Karrer (1932), fără însă a reuși ca metodele lor să fie utilizate în tehnică.

În tehnologie s-au impus procedeele :

1. Arens și van Dorp, care au pornit de la condensarea β-iononă-C_{13}-cetonă cu esterul metalic al acidului γ-bromcrotonic (1946—1949).

2. Saponificarea cu NaOH alcoolic la temperatura de 75° a uleiurilor din ficat de pește marin, într-o atmosferă de azot (pînă în 1950).

3. Isler, care transformă citratul extras din oleum citri în β-iononă, iar aceasta, prin reacția Grignard, formează scheletul structural al vitaminei A.

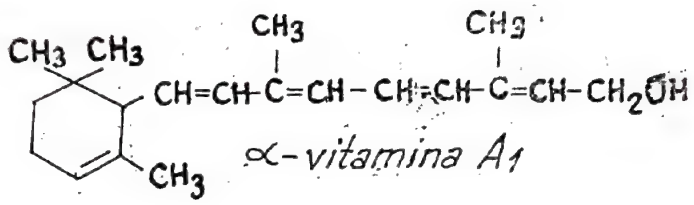
Prin acetilarea vitaminei A (retinol) se obține esterul, vitamina A-acetat (retinol acetat). Acest ester este apoi transformat în retinol-palmitat, care este o soluție uleioasă sau amestec de ulei și cristale de

culoare galbenă, ce a fost înglobată în mici granule sferice de gelatină solidă.

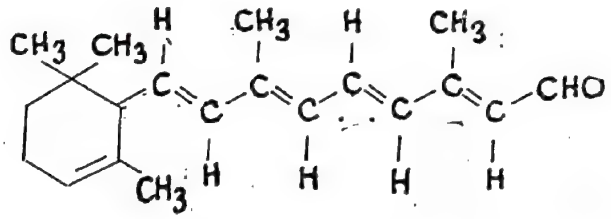
Datorită agenţilor de solubilizare (polisorbat 80, cromofor R etc.), se pot obţine soluţii apoase de retinol-palmitat, la care se adaugă antioxidanţi ca : acid ascorbic 0,1%, alfa-tocoferol 3%, EDTA-Na_2 0,20%, acid nordihidroquaiaretic 0,1%, pentru a se înlătura inactivarea.

Astăzi se folosesc mai multe modificări ale sintezei de bază. Pe toată durata procesului tehnologic, sensibilitatea vitaminei A este protejată de o pătură de azot.

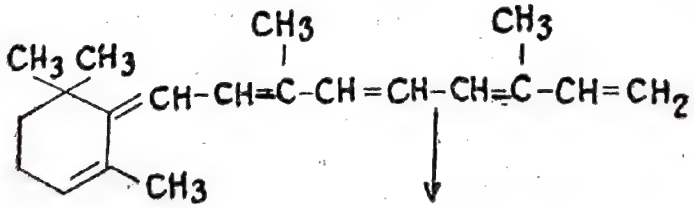
4. Prin sinteză, s-au mai preparat şi vitaminele A-α ; din α-iononă a fost sintetizat α-vitamina A_1 şi aldehida vitaminei A-trans-α.



α-vitamina A_1



La încălzirea retinolului cu HCl, în etanol anhidru, s-a obţinut un compus denumit anhidro-vitamina A_1, care a fost izolată şi din surse naturale.

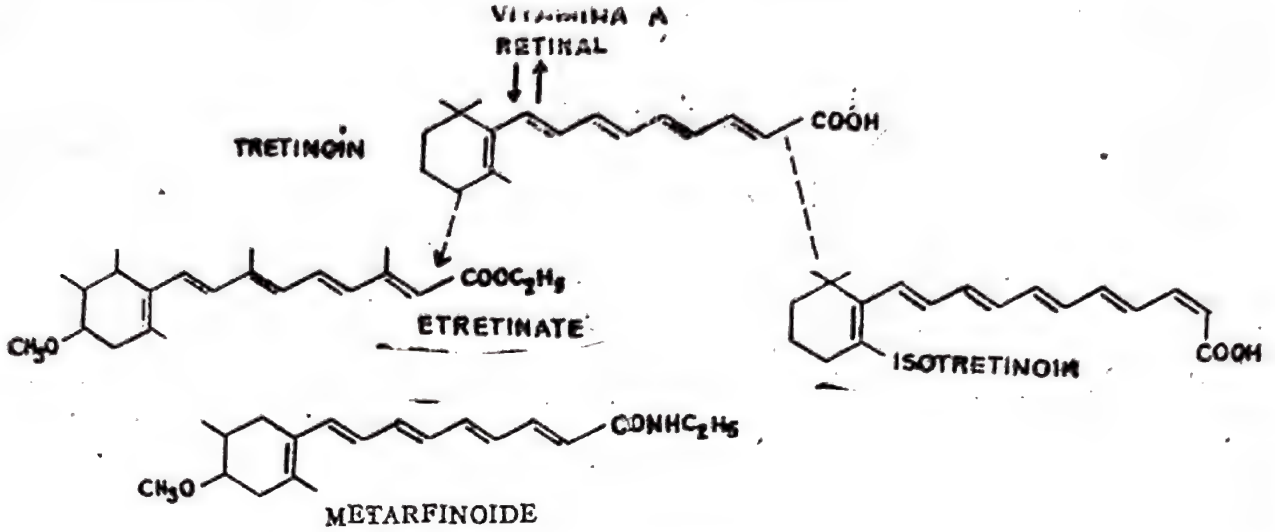


anhidrovitamina A_1

Tot pe cale de sinteză s-a preparat şi acidul retinoic (Tretinoin) a cărui activitate farmacodinamică a fost stabilită a fi circa 60% din activitatea acetatului de retinol.

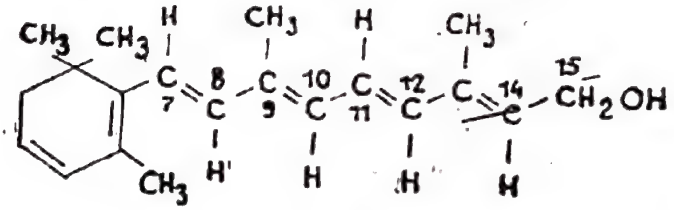
De asemenea, s-au sintetizat izomerii :

— Izotretinoin (acid 13-cis-retinoic)
— Etretinate (Ro-10-9359)
— Arotinoizii (Ro-13-6298)
— Motoretinide



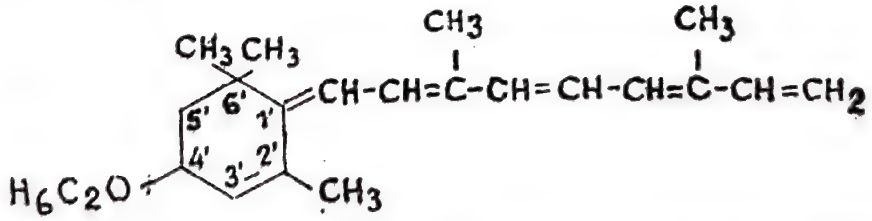
1.9. Dehidroretinol sau vitamina A_2

Din uleiul de ficat de peşte de rîu a fost preparat 3-dehidroretinolul, care a fost denumit vitamina A_2 şi care a fost obţinut şi prin sinteză:

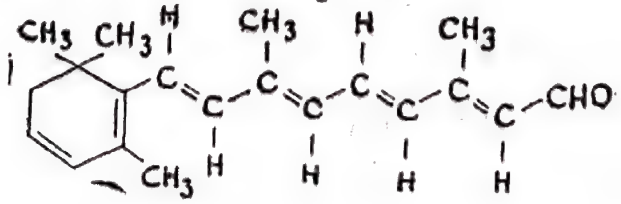


Vitamina A_2, spre deosebire de retinol, prezintă în plus o legătură dublă în ciclul β-ionononic găsindu-se, alături de retinol, la peştii de apă dulce. De asemenea, spectrul de absorbţie este deosebit de cel al retinolului: 693-697 nm pentru vitamina A_2 şi 610-620 nm pentru retinol. Vitamina A_2 este mai sensibilă la oxidare decît retinolul.

Tratarea 3-dehidroretinolului cu HCl etanolic anhidru a produs anhidrovitamina A_2 (27):



Aldehida acestei vitamine este dehidro-3-retinal (dehidroretinal) sau retinen A_2:



A. Plack şi K. Kon au găsit că aldehida vitaminei A_2 predomină la ştiuci şi păstrăvi, pe cînd retinalul la mreană.

1.10. Proprietăţile fizico-chimice ale vitaminelor A

Vitaminele A se solvă în diverse proporţii în alcoolii metilic, etilic, în unii solvenţi organici : cloroform, ciclohexan şi eter, precum şi în unele grăsimi şi uleiuri.

Retinolul este de culoare galbenă şi se topeşte la temperatura de 62°C (tabelul 7).

Tabelul 7

Caracteristici ale retinolului şi ale unor esteri (Steenbock H.)

Compus	Formulă	Formă	p.t. °C	Biopotenţa teoretică U/g	µg/u
Vit. A alcool (retinol)	$C_{20}H_{30}O$	Cristale galbene	62—64	3.330.000	0,30
Vit. A acetat	$C_{22}H_{32}O_2$	galbene	57—58	2.904.000	0,34
Vit. A palmitat	$C_{36}H_{60}O_2$	galbene	28—29	1.817.000	0,55

Vitamina A_2, la temperatura obişnuită, se prezintă sub formă de lichid uleios, de culoare galbenă, stabilă în absenţa oxigenului ; este distrusă foarte uşor de razele solare, de radiaţiile ultraviolete, de uleiurile rîncezite, de peroxizi, de $FeCl_3$, iar temperatura ridicată favorizează degradarea în aer ; în vid rezistă chiar la 130°.

Are rol de prooxidant, întrucît structura chimică se autooxidează formînd radicali liberi inactivi. Se preîntîmpină inactivarea prin adăugarea de substanţe „antioxigen": chinhidronă, tocoferoli, care protejează vitamina A.

Datorită grupării alcoolice, retinolul are capacitatea de a forma esteri, care sînt mult mai stabili. În uleiul de ficat de peşte se găseşte sub formă de palmitat, iar ca standard internaţional este admisă sub formă de acetat de retinol sau vitamina A.

1.11. Sursele vitaminelor A şi utilizarea biologică

Animalele ierbivore primesc carotenoizii o dată cu hrana şi-i transformă în retinol. Sursa de vitamine A pentru animalele carnivore o formează alimentaţia de origine animală. Omul ia vitaminele A, pe de o parte, sub formă de provitamina A, precum şi ca vitamină A, pentru alimentele de natură animală.

Vitaminele A naturale, aduse cu alimentele sub formă de esteri, sînt hidrolizate (pH optim 8,6) la nivelul intestinului sub acţiunea enzimei retinolester-hidrolazei pancreatice şi, sub formă de retinol, traver-

Scanned with OKEN Scanner

sează porțiunea superioară și mijlocie a intestinului subțire, după care acizii grași cu catenă lungă, de preferință cu acidul palmitic, se reconstituie la nivelul microzomilor (pH 6,6), forma esterică a retinolului acumulîndu-se sub formă de chilomicroni. Sub această formă esterică, vitamina A_1 este transportată prin limfatice la organele de depozit. Proteina de transport specifică vitaminelor A este o lipoproteină bogată în triptofan (R.P.B.).

În ficat, în celulele Kupfer se depune majoritatea cantității de vitamină A_1 : de ex., la șobolan circa 95% este depozitată la acest nivel sub formă esterică, palmitat de vitamină, și numai 5% sub formă de retinol liber.

Esterii retinolului, depozitați în ficat, dacă este necesar sînt hidrolizați din nou, eliberînd retinolul care, prin circulația sanguină, cuplat cu R.P.B. („retinol-binding-protein"), care este un complex „prealbumine-proteine" specific de legare a retinolului, ajunge la toate celulele țesuturilor, unde este necesar proceselor metabolice la nivelul epiteliilor, aparatului vizual, SNC, glande endocrine etc., precum și pentru menținerea, în limite normale, a concentrației sanguine a vitaminei A.

Fidge N. și Berger S. (23) consideră că nu retinolul este în mod direct forma principală activă a vitaminei A în metabolismul general al mamiferelor și păsărilor, ci, probabil, acidul rctinoic sau derivații acestuia. Mai mult, s-a arătat că atît retinolul cît și retinalul sînt convertiți în acid retinoic.

Retinalul se poate reduce la retinol sub acțiunea unei aldehid-reductaze nespecifice, a cărei coenzimă este NADH sau NADPH. Se presupune că cel puțin o anumită cantitate de retinol derivată din alimente poate fi oxidată în acid retinoic, în țesutul epitelial intestinal, la fel ca și în ficat și că este cu ușurință excretat, o parte, prin bilă, sau fecale.

Ca rezultat al acestor procese se formează β-glucuronidele acidului retinoic, din care o parte sînt transportate prin sîngele portal în ficat și, simultan, participă la circulația enterohepatică.

Vitamina A se găsește mai ales sub formă de palmitat în : intestin, limfatice și ficat, iar în sînge, sub formă liberă neesterificată, se găsește în cea mai mare cantitate ; în cantități mici sînt retinalul și acidul retinoic β-glucoronat.

În mod normal urina nu conține vitamina A_1 ; aceasta poate apare în urină numai în cazuri patologice : de ex., în nefrita cronică. Schema generală a metabolismului vitaminei A, după A. Olson (25), este redată în fig. 4.

Șobolanii, care au primit o cantitate mare de vitamină A_1 naturală (uleiul de ficat de pește), au prezentat o creștere rapidă a concentrației esterilor vitaminei A_1 din sînge și numai o creștere moderată a cantității de retinol. Acest fapt a determinat pe A. Chevallier și Y. Choron să pre-

Scanned with OKEN Scanner

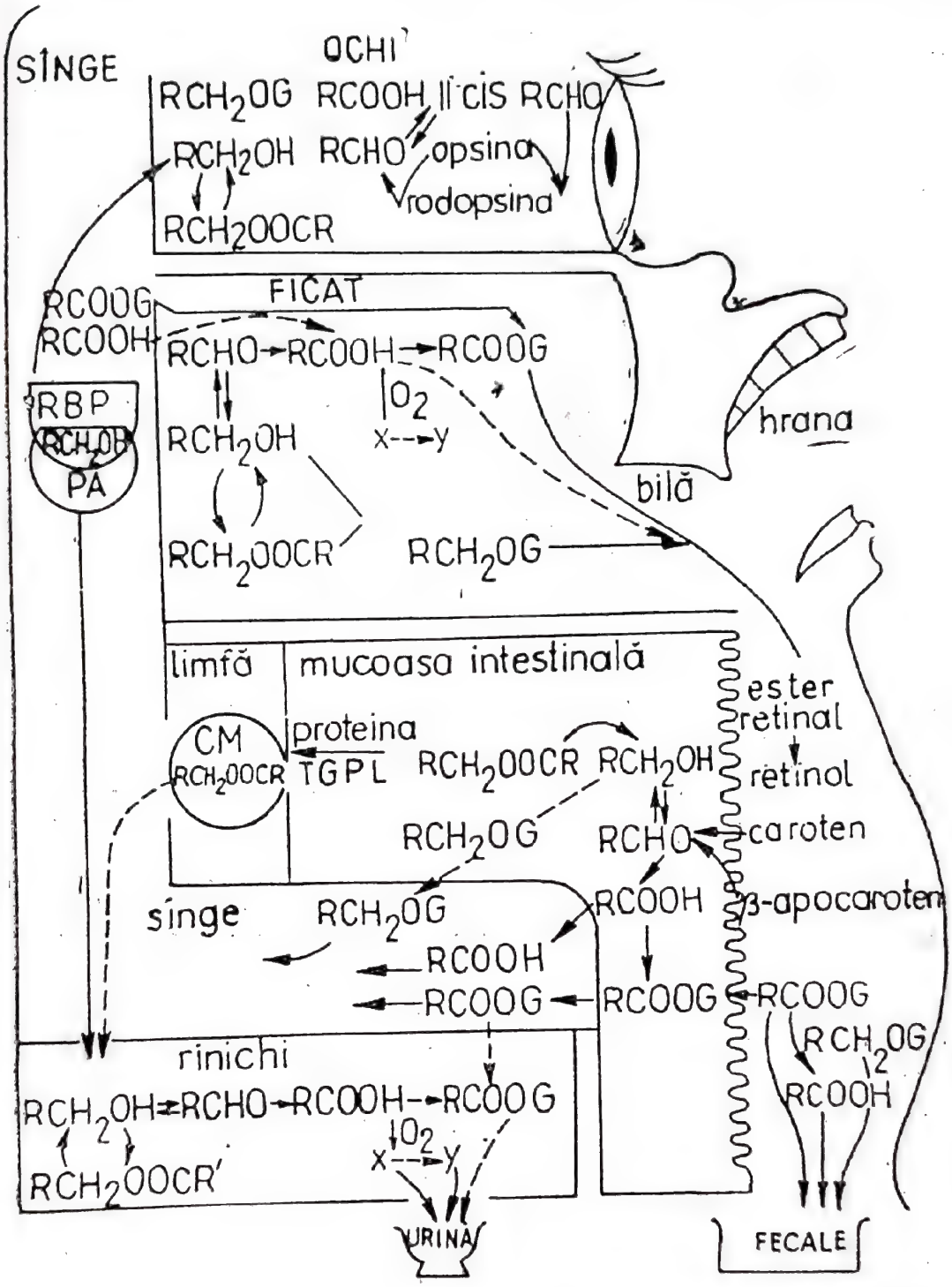


Fig. 4 — Schema generală a metabolismului vitaminei A (RCH_2OH = retinol ; RCHO = retinal) F (25)

RCH_2OH	= retinol	RBP	= „retinol binding protein" (prealbumine-proteine specifice de legare a retinolului)
RCHO	= retinal	PA	= prealbumină acidă
RCOOH	= acid retinoic	CM	= chilomicron
RCH_2OG	= retinil-β-glucoziduronat	TG	= triglicerid
RCOOG	= retinoil-β-glucuronoid	TG — Pl	= triglicerid-palmitat
RCH_2OOCR'	= ester retinil		

supună că este o preferință pentru transportul vitaminei A în sînge ca alcool liber (retinol).

Cantitatea cea mai mare de vitamină A se găsește în grăsimea ficatului peștilor marini (60 000 μg/100 g), pusă la dispoziție sub formă de untură de pește (sau uleiul de pește). Peștii iau vitaminele A din planctonul marin, care formează hrana de bază a acestora.

De asemenea, ficatul animalelor și al păsărilor conține cantități apreciabile de retinol (ficatul ursului polar conține 20 000—50 000 UI/Kgc).

Carnea, viscerele, gălbenușul de ou, produsele lactate conțin vitamina A_1 în diferite cantități, care sînt mai crescute în timpul verii decît în timpul iernii. Nu conțin vitamina A_1 uleiurile vegetale, untura, seul, margarina, slănina. Redăm mai jos valorile medii (γ%) ale vitaminei A_1, din cîteva alimente (12) (tabelul 8):

Tabelul 8

Vitamina A_1 din 100 g alimente

Alimentul	γ %
Laptele de vacă sau matern	250
Smîntînă	350
Unt	3 050
Brînză de vaci	100
Brînză de oi	1 000
Gălbenuș	5 000
Ficat	60 000
Rinichi	1 500
Pește	10 000
Carne	100
Untură de pește	3 000 000

Analiza unturii de pește și efectul administrării acesteia la șobolanii cu deficit în vitamina A_1 a dus la concluzia existenței vitaminei A_1 și eficacității ei biologice.

H. Gounelle și C. Mornay (26) au stabilit procentajele de vitamină A, pe care le conțin 100 g dintr-un anumit aliment (tabelul 9).

Prin alimente, organismul își asigură necesarul zilnic de vitamină (tabelul 9).

Alimentele congelate pierd 5—10% din vitamina A la o depozitare de 12 luni la —23°C ; grăsimile rîncede au efect catalitic în distrugerea vitaminei A.

Cu ajutorul acestor tabele se poate stabili deficitul în vitamină A a unei diete zilnice, precum și „testul dietetic" de activitate vitaminică zilnică indispensabilă adultului de 70 kg, a cărui unitate zilnică este 100. Dacă conținutul total al unei hrane zilnice nu depășește unitatea zilnică de 100, atunci există un deficit de aport vitaminic. Prepararea culinară nu duce la distrugerea vitaminelor, în afară de grăsimile prăjite.

Scanned with OKEN Scanner

Studiile efectuate au arătat că există doi factori majori care controlează utilizarea biologică a surselor de vitamină A :

— diluentul sau vehicolul care conține vitamina A ;

— mărimea particulei de vitamină A în cadrul diluentului sau vehiculului.

Tabelul 9

Activitatea vitaminică A % necesarului zinic (adult), furnizată de 100 g alimente (26)

Sub 10 %		10—25 %		25—50 %		Peste 50 %	
Lapte de vacă	2,0	Smîntînă Brînză moale	16,0 20,0	Brînză tare	28	Unt	60
Pasăre Pește	8,0 2,0	Ou	20,0			Ou praf Ficat de vacă, porc Ficat viței Untură de pește	60 250 1000 1200
Mălai Legume uscate	3,0 2,0						
Lăptuci	4,0	Mazăre boabe	11,0			Sfeclă	56
Măsline Fasole verde Cartofi	6,0 7,4 8,4	Pătlăgea roșie Sparanghel	13,0 20,0			Cicoare Morcov Varză Spanac	60 60 70 152
Pere Mere Fructe proaspete Prune	0,4 1,4 5,4 7,0	Cireșe Piersici Caise, pere uscate	12,0 12,0 20,0	Caise	45		

Notă : Pentru alimentele vegetale cifrele indică conținutul în β— caroten ; valoarea vitaminei A depinde însă de coeficientul individual de absorbție și de transformare.

Literatura de specialitate arată că o creștere a utilizării biologice este în raport cu micșorarea particulelor de vitamină A în diluent sau vehicul. Astfel, o soluție simplă de ulei a vitaminei A este mai puțin eficientă la om și animal decît dacă vitamina A este dispersată sub formă de particule de ordinul micronilor în apă.

Hidroliza și esterificarea este inhibată de : NaF, arsenit de sodiu, dietilamină acetarsol, diizopropil-fosforo-fluotidat, p-nitrofenil fosfat, pe cînd Tween 20, taurocolatul de sodiu, $CaCl_2$ inhibă numai esterificarea.

Experimentările au arătat că vitamina A din soluții uleioase este absorbită la nivelul peretelui intestinal mai puțin decît atunci cînd se găsește în vehicul apos (18).

Scanned with OKEN Scanner

După 6 ore de la administrarea vitaminei A la pui, s-a găsit în fecalele lor o cantitate de vitamină mai mare la cei care au primit vitamina A uleioasă, decît la cei care au primit dispersii apoase de vitamină A (tabelul 10).

Tabelul 10

Conținutul vitaminei A în peretele intestinal de pui (USP unități/g)

Timpul după prînz (ore)	Vitamina A palmitat în vehicul cu apă	Vitamina A palmitat în soluție uleioasă
0,5	—	—
1,0	91	5
2,0	45	3
3,0	25	6
4,5	21	14
5,0	—	—
6,0	—	—

USP=soluție de referință, care constă în vitamina A pură all-trans, dizolvată într-un ulei vegetal

Aceleași observații au fost făcute și la șobolani. Cu ajutorul microscopiei fluorescente care s-a constatat că absorbția prin peretele intestinal este de trei ori mai mare la vitamina A dintr-un vehicul apos-decît dintr-o soluție uleioasă. Absorbția, ca și excreția vitaminei, ma, depinde și de mărimea particulelor vitaminei A dispersate în vehicul.

Absorbția optimă și pierderea cea mai mică prin fecale survine la produsele care au vitamină A cu cele mai mici particule : de ex., laptele și dispersia apoasă de vitamină A. Uleiul și untul au o absorbție scăzută. Simpla omogenizare a aceluiași unt cu lapte produce o dispersie și o absorbție care este mult îmbunătățită (tabelul 11).

Tabelul 11

Efectul bioutilizării la copii a vitaminei A în funcție de mărimea particulei (după Lewi J. M.)

Vehicul dispersat	Mărimea particulei (microni)	Excreția fecală %
Ulei	—	32,7
Lapte	1—2	7,1
Dispersia apoasă	0,5—1	4,4
Unt	—	2,2
Unt omogenizat în lapte	2—10	8,7

Din tabel se observă că bioutilizarea cea mai mare a vitaminei A a fost în cazul dispersiei acesteia în mediul apos, cînd mărimea particulei a fost cea mai mică (0,5—1 microni).

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările efectuate (27) pe mai multe specii de animale au menționat superioritatea dispersiilor apoase în creșterea nivelului de vitamină A în sînge și lapte, în perioada lactației. Acest fapt este important pentru asigurarea cu vitamină A a sugarilor.

În tabelul 12 redăm conținutul în laptele și sîngele uman a vitaminei A (27), în raport cu vehiculul dispersat. S-a observat că mărimea nivelului în sînge al vitaminei A crește cu dispersia apoasă de vitamină A administrată și care permite, totodată, o creștere a difuziei la locul producerii laptelui.

Tabelul 12

Bioutilizarea vitaminei A — nivelul în laptele și sîngele uman (27)

Vehicul	Lapte		Sînge	
	g/100 ml	Utilizare %	g/100 ml	Utilizare %
Ulei I	53	100	191	100
Apos I	285	540	393	210
Ulei II	23	100	150	100
Apos II	187	800	253	170

Experimentările pe viței au arătat că, atunci cînd vitamina A este emulsionată, perioada de epuizare este aproape dublată ; rezultatele din tabelul 13 ilustrează avantajul mărimii particulelor de ordinul micronilor a vitaminei A, cu privire la metoda de administrare și la eficacitatea ei în organism.

Tabelul 13

Tipul de epuizare a formei vitaminei A la viței (14)

Sursa de vitamină A	Epuizare terminală	
	Zile	Interval
Vitamină în lapte	24	3—41
Emulsionată cu lapte	43	24—64
În capsulă	20	7—30
Emulsionată în capsulă	34	27—44

Utilizarea biologică a vitaminei A este cu atît mai crescută cu cît se găsește dispersată, în particule de ordinul micronilor, în alimente sau în preparate medicamentoase.

Cercetările au arătat că esterul de retinol-palmitat, preparat pe cale de sinteză și înglobat în mici granule sferice de gelatină acidă, este mai ușor depozitat în ficat decît retinolul din uleiul de pește.

Scanned with OKEN Scanner

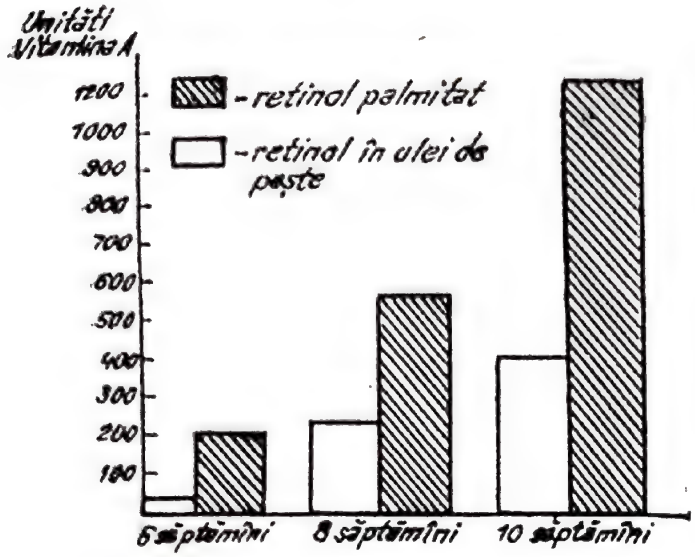


Fig. 5 — Valorile vitaminei A din ficatul puilor.

Experimentările efectuate pe puii de găină au arătat că produsul de ester-palmitat al retinolului prezintă valori de depozitare în ficat de 4 ori mai mari decît retinolul din untura de pește. În fig. 5 sînt redate valorile vitaminei A din ficatul puilor de diferite vîrste, care au primit retinol-palmitat în gelatină, precum și retinol în ulei de pește.

Vitaminele A din alimente, dispersate în mediu apos, sînt supuse acțiunii oxigenului din aer, care are un efect distructiv important. De asemenea, multe urme de minerale ca Fe, Cu, Mn, Zn accelerează descompunerea vitaminelor A (28).

Observațiile făcute la șobolani — fig. 6 — (29), după administrarea orală de ester de retinol sau retinol, au arătat o creștere marcantă în plasmă a esterului de retinol (127).

Vitaminele A ajung în sînge după 3 — 5 ore de la administrarea per os, iar provitaminele după 7 — 8 ore, fiind transportate sub formă legată, de globulinele plasmatice (α_1-globuline), la sistemul reticulohistiocitar și apoi depozitate — carotenii în țesutul adipos, iar vitaminele A, într-o proporție de 90 — 95%, sub formă de palmitat, în ficat (300 μg/g). (30).

Vitamina A_1 se găsește în plasmă aproape în întregime ca alcool liber (retinol) și numai 10 — 17% este sub formă esterificată de palmitat.

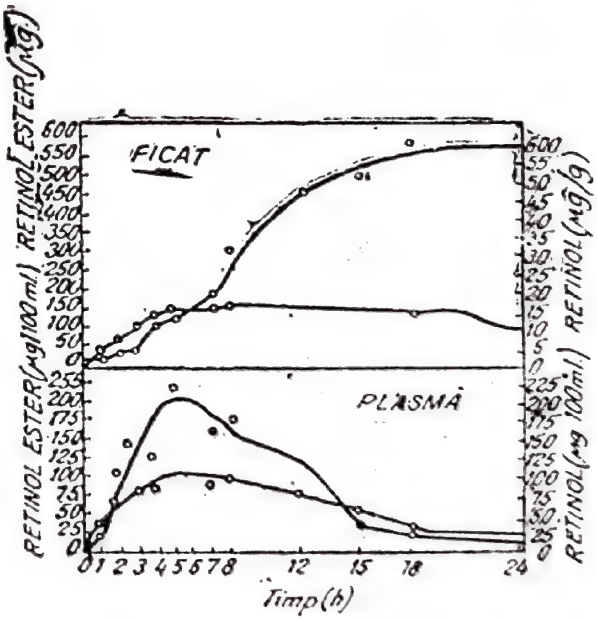


Fig. 6 — Aparență relativă a esterului (•) și retinolului (o) în sîngele și ficatul de șobolan cu carență în vitamina A_1, după o singură doză de retinol.

O serie de cercetări l-au determinat pe Moore (15) să propună pentru carotenoidele totale din plasmă cantitatea de 131 μg/100 ml și pentru vitamina A 130 UI/100 ml. Cantitatea de vitamină A_1 scade în primele 3 luni de graviditate și revine la normal puțin timp după naștere.

Scanned with OKEN Scanner

Embrionul și fătul, în viața intrauterină, își iau vitamina A din rezervele de vitamină A ale mamei ; de aceea necesarul de vitamină A al femeii gravide este mult mai mare. Sîngele fetal este aproape cu 30% mai sărac în vitamină A decît sîngele mamei.

Copilul se naște cu un depozit de vitamină A în ficat pe care-l are de la mamă, iar prin laptele matern își acoperă necesitățile vitale în vitamină A ; de aceea necesitatea de vitamină A a femeii în această perioadă este aproape dublă față de cerințele fiziologice uzuale.

Experimentările au arătat că nevoile masculilor în vitamină A sînt mai mari decît ale femelelor, cu excepția perioadelor de graviditate.

Deficiența vitaminei A în alimentația femeii gravide are repercusiuni atît asupra fătului (care se poate naște cu diferite anomalii sau insuficient dezvoltat), cît și asupra mamei, dînd diferite maladii.

Nevoile de vitamină A sînt, de asemenea, mărite în cazuri de febră, diabet, hipertiroidism, cînd consumul în această vitamină este mărit, precum și în cazul infecțiilor hepatice și intestinale, cînd digestia și absorbția de grăsimi și vitamină A sînt reduse.

Nevoile de vitamină A sînt mai mari în condițiile unei temperaturi scăzute sau în cazul unor expuneri la radiații luminoase. De aceea se recomandă o cantitate mai mare de vitamină A pe cale alimentară sau medicamentoasă. În cazul deficienței alimentare de vitamină A, nivelul vitaminei A în sînge este menținut cu acela din rezerva hepatică. Nivelul din sînge scade numai după consumarea depozitului din ficat, iar acesta nu dispare niciodată complet.

Rezerva de vitamină A (60—20 μg/g ficat proaspăt, respectiv 200—300 UI) scade în cazul blocării sistemului reticulo-endotelial, nefrite, peritonite, bronșite, hipertensiune, ulcer gastric, sifilis și crește în cazul următoarelor maladii: ciroză, uremie, tireotoxicoze etc.

Cercetările lui Palmer și Eckles, efectuate asupra serului bovin, au arătat că există o asociere între carotenoizi și proteine, pe care ei au izolat-o sub denumirea de „caroto-albumină". În 1950, L. Oncley și col. au constatat că această asociere este efectuată în plasma de om de β-lipoproteine. Aceste cercetări au fost confirmate și asupra vitaminelor A din plasma umană, precum și asupra fracțiunii proteice din plasma de pui, care se asociază cu retinolul, precum și cu esterii săi.

I. Krinsky și col. au arătat că lipoproteinele cu densitate mică (Sf. 10—100) (o unitate Svedberg (Sf)$=10^{-13}$ cm/sec/dynă/g la 26°C) fac transportul de ester de vitamină A către celulele Kupfer din ficat, pe cînd proteinele cu densitate mai mare (Sf=3—9 și mai mult), ca și alte proteine serice, transportă retinolul, care este folosit de organism în nevoile imediate.

Scanned with OKEN Scanner

Cu ajutorul atomilor marcați s-a confirmat că esterii de vitamină A la șobolani, ca și la alte specii, sînt transportați de lipoproteine cu densitate mică, în timp ce vitamina A alcool (retinol) este transportată de o γ_1—globulină.

De asemenea, o combinație între vitamina A_1 și o proteină se face în ochi, unde aldehida vitaminei A (retinen) se combină cu o proteină numită opsina, dînd rodopsina.

La copii, după vîrsta de un an, necesarul în vitamină A este mai mare decît cel adus prin laptele alimentar și se impune administrarea vitaminei A sub diferite forme : alimente, medicamente. Ea este depozitată în cantitatea cea mai mare în ficat ; în cantități mai mici se află în rinichi, plămîni, suprarenale, testicul, ovare și retină (31).

La adultul tînăr sănătos, vitamina A se înmagazinează în ficat într-o proporție de aproximativ 500 000 UI. Această mare rezervă hepatică este suficientă pentru o perioadă de 6 luni cu dietă lipsită de vitamina A (29) dacă nu este redusă de infecții, hipertermie și intoxicații.

Valorile cantitative ale vitaminei A din depozitele organismului variază în funcție de doi factori.

1. De alimentația care conține vitamina A și caroten, de aportul mare de grăsimi, în special acizii grași esențiali, de colină, vitamine E, de calitatea și cantitatea proteinelor (43), precum și de aportul de hidrați de carbon și unele minerale.

Cînd calitatea și cantitatea proteinei în dietă este scăzută, utilizarea vitaminei A este diminuată. S-a arătat că îmbunătățirea dietei cu aminoacizi și, în special, cu lizină (31) duce la creșterea conținutului seric și al ficatului în vitamina A.

2. De starea fiziologică a organismului, întrucît în anumite stări patologice — nefrite, bronșite cronice, sifilis, peritonite, ulcer gastric, hipertensiune etc. — se găsește o cantitate mică de vitamină A.

Vitamina E, administrată per os, mărește resorbția vitaminei A la nivelul intestinului, datorită funcției antioxidante pe care o exercită la acest nivel, blocînd astfel sistemele oxidante din alimente.

Interrelația dintre vitaminele E și A este modificată de prezența grăsimilor din dietă, la fel ca și conținutul lor din organism (31).

De asemenea, și prezența colinei mărește cantitatea de vitamină A depozitată în ficat. Lipsa colinei duce la o scădere a vitaminei A din ficat.

S. Berger și col. (21) au arătat că lactoza, fructoza sau galactoza, cînd sînt adăugate la emulsia de caroten (concentrația 5%), nu au efect asupra depozitării vitaminei A în ficat, în timp ce o dietă izocalorică cu glucoză scade acest proces. De asemenea, conținutul crescut în celuloză sau lignină în dietă scade conținutul vitaminei A în ficat și nu are efect asupra concentrației sanguine (32).

Scanned with OKEN Scanner

În afară de proteine, grăsimi sau carbohidraţi s-a observat că mineralele influenţează utilizarea vitaminei A în organism. De ex., o concentraţie scăzută a cuprului plasmatic cauzează creşterea vitaminei A în ser, însă conţinutul tisular de Na şi K scade în condiţiile unei hipovitaminoze A (33).

Karen Gravesen (34), făcînd o serie de cercetări zilnice pe oameni sănătoşi, la intervale mai mari şi în mod periodic, a găsit : la bărbaţi o medie de 60,4 μg/100 ml ser vitamina A, cu variaţii de 22,4%, iar la femei, corespunzător, a găsit 49,4 μg/100 ml ser cu variaţii de 27,3%.

Autorul susţine că influenţa vîrstei este un fapt nehotărîtor asupra valorii cantitative a retinolului şi a carotenului ; în schimb, diferenţele de sex au valori ce diferă semnificativ.

I. Krinsky şi col. au demonstrat că, în timpul fazei active a digestiei, chilomicronii din plasma umană conţin o cantitate nesemnificativă de vitamină A sau carotenoide (tabelul 14), în prezenţa proteinelor (35).

A. Peterson P. A. (35), în 1971, susţine că a izolat din serul uman normal un complex proteic transportor de retinol, format dintr-o prealbumină şi proteina umană de legare a retinolului (RPB). Interacţiunea dintre prealbumină şi retinol este dependentă de concentraţia sărurilor. Autorul crede că o moleculă de vitamină A este transportată de un mol de proteină (tabelul 14).

Tabelul 14

Distribuţia retinolului, esterului de retinol şi a carotenoizilor în serul uman în timpul perioadei de absorbţie activă (3 ore după administrare). După Krinsky (35).

Fracţiunea serică	Retinol %	Retinol ester %	Caroten şi licopen %	Luteină %
Chilomicroni	5,3	7,5	0	6,4
Sf : 10—100	3,9	79,4	0	9,1
Sf : 3—9	20,2	8,6	78,3	50,3
Alte proteine	70,6	4,4	21,7	34,3

Analizele imunochimice au arătat că RPB („retinol-binding-protein")—proteina de legare a retinolului — disociază direct în prezenţa anticorpilor.

La copii, lipsa de proteine transportoare duce la nivele scăzute de vitamină A în plasmă, indiferent dacă cantitatea administrată este în sfera hipervitaminozei A.

În condiţii experimentale, acest fenomen a fost observat la porc, şobolan şi la om.

Toate vertebratele necesită o sursă exogenă de vitamină A sau provitamine A, pentru vedere, menținerea integrității țesutului epitelial și dezvoltarea normală a oaselor etc.

În procesul vizual, receptorii ochiului transmit fotostimuli inițiali nervului optic. Acești fotoreceptori sînt în retină și sînt clasificați sub formă de conuri și bastonașe. Conurile au un rol important pentru vederea la lumina strălucitoare sau vederea fotooptică, pe cînd bastonașele sînt responsabile pentru vederea în lumina difuză sau vederea scotoptică.

Celulele fotoreceptoare sînt activate de lumină, atît cele sub formă de conuri, cît și cele sub formă de bastonașe.

Celulele sub formă de conuri (circa 3 milioane) răspund la vederea colorată ; ele conțin pigmenți cu proteine (opisne) diferite : iodopsina (cu maximum de absorbție în verde), cianopsina (în albastru), porfiropsina (în roșu) (fig. 7) ; cromoforul tuturor pigmenților vizuali este cisretinenul (cis-retinal).

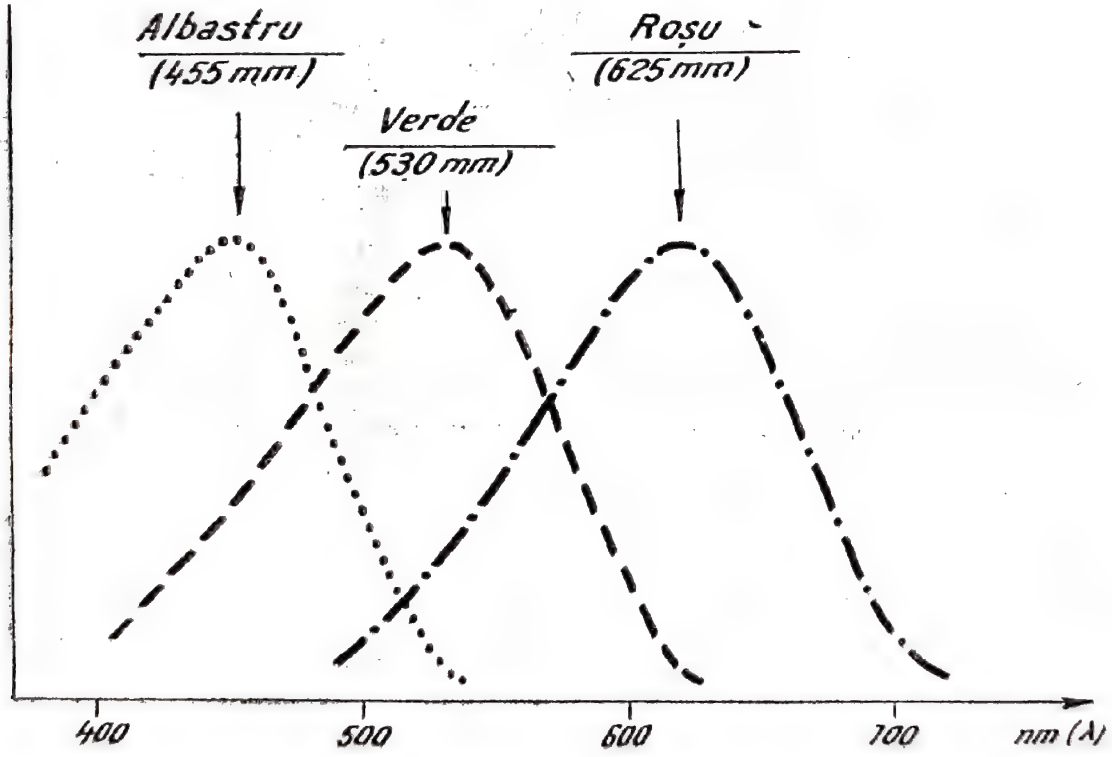


Fig. 7 — Spectrele de absorbție ale pigmenților din fotoreceptori (L. Stryer).

Pigmenții sînt fotosensibili, dar la lungimi de undă diferite.

Lipsa tipului de proteină (opsina) specifică din conuri determină lipsa moleculei fotoreceptorului, deci cecitatea (orbirea) pentru culoarea respectivă (roșie, galbenă etc.).

Bastonașele conțin un pigment roșu fotosensibil, numit radiosina (odinioară denumit „purpura vizuală“ sau porfiropsina). Vitamina A

intervine în retină ca element prostetic atît al rodopsinei cît și al iodopsinei.

Retinolul a fost izolat din țesuturile ochiului mai ales din retina de broască, porc, oaie, bovine și om (19).

Datorită alternanței dintre lumina zilei și întuneric există un ciclu vizual (fig. 8).

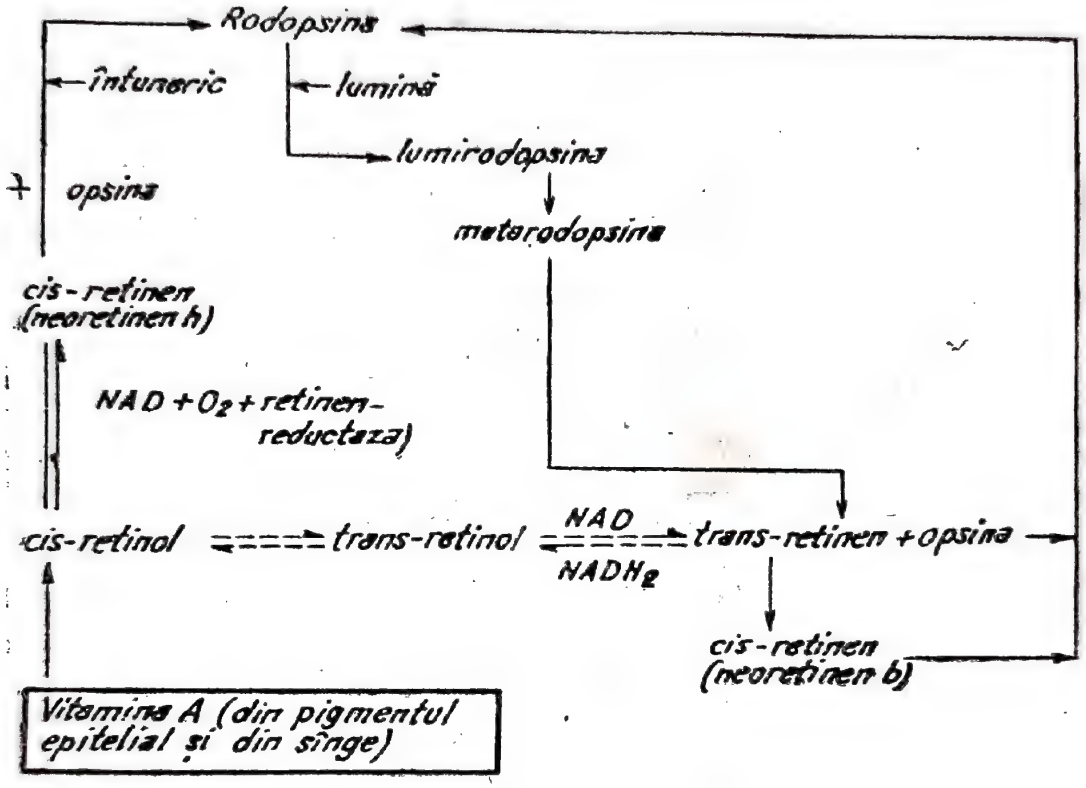


Fig. 8 — Rolul vitaminei A în procesul vizual.

La lumina puternică, rodopsina, prin absorbția luminii, este convertită în lumirodopsină de culoare galben-portocalie, intermediară, care, datorită unei transformări induse termic și urmată de o reacție fotochimică, este convertită în metarodopsină care, în prezența apei, a fost convertită în retinen-trans și o proteină denumită opsină.

Datorită unor modificări stereochimice, retinen-trans este transformat în retinen-cis (cis-retinen).

La această izomerizare participă o enzimă denumită izomerază retiniană, găsită în epiteliul pigmentar al unor animale și predominantă în retina altora.

În acest stadiu, rodopsina este decolorată ; datorită enzimei retinen-reductază (27, 36), retinenul este redus la retinol. Această enzimă este o dehidrogenază alcoolică și coenzima sa este nicotinamid-adenin-

dinucleotid sau coenzima I. Acest stadiu al procesului este o etapă de oxido-reducere, care este mediată de NAD^+ :

$$\text{Retinen-trans} + NADH_2 \xrightarrow{\text{retinen reductază}} \text{retinol-trans} + NAD^+$$

Retinolul-trans este transformat în retinol-cis. Vitamina A endogenă sau retinolul endogen va suferi o conversie de la cis-retinol la cis-retinen, care numai sub această formă se poate uni cu opsina pentru a forma redopsina.

În acest ciclu, o parte din retinol este pierdută, fiind necesar, astfel, un nou aport alimentar de vitamină.

Procesul ciclic al vederii scotoptice poate fi rezumat astfel : impulsul fotochimic inițial are ca rezultat reducerea rodopsinei în aldehida vitaminei A, denumită retinen (retinal), și o proteină numită opsină.

În cadrul acestui proces biochimic survine o modificare în lanțul lateral al moleculei de retinol.

Radopsina este o cromoproteidă cu greutate moleculară la bovine și om de 38 000—40 000, formată dintr-o parte proteică numită opsină, de care se leagă izomerul aldehidei vitaminei A, 11-cis-retinal (neo-b-retinal sau neoretinen b), care se găsește în celule sub formă de bastonașe și conuri, constituind o rețea lungă nesaturată de electroni.

Spectral s-a stabilit că în rodopsină, 11-cis-retinalul se leagă prin gruparea sa aldehidică cu gruparea $\varepsilon\text{-}NH_2$ a unei lizine din opsină, sub forma unei baze Schiff protonate :

$$C_{19}H_{27}-CHO + H_2N-R \rightleftharpoons C_{19}H_{27}-\underset{H}{C}=\underset{H}{N}-R-H + H_2O$$

11-cis-retinal (opsina) Baza Schiff (protonată)

În segmentul extern al bastonașelor din retină, lumina (fotonii) izomerizează 11-cis-retinolul în trans-retinal, cu modificări conformaționale, care duc la „decolorarea rodopsinei și desfacerea transretinalului de opsină.

Datorită izomerizării, membrana plasmatică a segmentului extern al bastonașelor se hiperpolarizează (generînd influxul nervos), din cauza modificării permeabilității membranei pentru ionii de Na^{++}; acest mecanism biochimic nu este perfect elucidat.

În rodopsină există 2 duble legături cis în lanțul lateral, în timp ce materialul care se separă de proteină are configurația trans, separarea fiind ireversibilă. Procesul de reducere al retinenului în retinalul corespunzător are loc în configurația trans, în acea etapă retinolul putînd să părăsească retina ; izomerizarea și reoxidarea trebuie să aibă loc înainte ca aceasta să ajungă să se unească din nou cu componenta sa proteică opsina, precum și înaintea schimbării configurației din trans în cis. Aceste

observații explică necesitatea aportului repetat de retinol pentru compensarea pierderilor.

În timpul unui stadiu al procesului general, impulsul este transmis nervului optic și atunci retinenul este convertit în retinol prin sistemul enzimatic NAD-dependent.

În timpul activității vizuale, retinolul se diferențiază în afara retinei, în epiteliul pigmentar ; o parte este eliberată în sînge. Retina absoarbe atunci selectiv cis-retinolul, care este oxidat enzimatic în cis-retinal (1971). Recombinarea cis-retinenului cu opsina regenerează rodopsina.

Dowling și Wold au constatat că retinolul este implicat nu numai în prevenirea hemeralopiei, ci și în stabilizarea opsinei și în protecția celulelor cu bastonașe ale retinei, împotriva deteriorării.

Retinolul este un element esențial pentru formarea rodopsinei în celulele cu bastonașe ale retinei și este necesar pentru vederea în lumina slabă.

N. W. Reachiny ajunge la concluzia, experimentînd pe șobolani cu retina normală, că adaptarea la întuneric determină o creștere substanțială în conținutul de retinen ; adaptarea la lumină cauzează o scădere de retinen în retină ; decolorarea prelungită nu reduce complet retinenul.

La ochiul afectat, concentrațiile de retinol au fost de două ori mai mari decît la ochiul normal.

În stare fiziologică normală se menține un echilibru între desfacerea și refacerea rodopsinei și între aldehida vitaminei A, retinal și vitamina A retinol (retinal $\rightleftharpoons$ retinol), care implică schimbări și cerințe continui din cantitatea de vitamină A a organismului.

În unele stări fiziopatologice : glaucom cu cataractă, diabet, graviditate, boli hepatice, albinism la bătrîni, în intoxicațiile alcoolice, Cu, As, Pb, Mn etc., fără să existe o carență de vitamină A, apar dezechilibre între retinal$\rightleftharpoons$retinol, care sînt considerate ca un deficit enzimatic ce necesită cofactori vitaminici (B_1, B_2, B_6), care participă alături de vitamina A la procesul biochimic al vederii, în care pot fi implicați și alți factori, mai puțin cunoscuți, ca hormoni etc.

În asemenea cazuri se indică vitaminoretapie complexă (A+B)

J. T. Dingle (38) a observat că preparatele din ficat de șobolan, suspendate în sucroză 0,2 M și tratate cu vitamina A, eliberează enzimă proteolitică cu un pH optim acid.

Linder și col. (39), izolînd celulele Kupffer din ficatul de șobolan, cu o dietă normală și cu exces de vitamină A și urmărind conținutul în vitamină A al acestora în raport cu vitamina A din ficat, au găsit în toate cazurile că celulele Kupffer conțin vitamina la valori mult mai

Scanned with OKEN Scanner

scăzute decît hepatocitele, și anume într-o proporție de 4%. Aceeași distribuție a vitaminei A a fost găsită la o oră după injectarea i.v. de ^{14}C-retinol.

Prin cercetări laborioase, J. A. Lucy a ajuns la concluzia că retinolul are un efect mai mic asupra mitocondriilor din splină și creier decît asupra mitocondriilor din ficat și rinichi.

S-a pus în evidență existența enzimei vitamina A-esteraza. Alcaloizii, ionii metalici și compușii cu arsen s-au arătat a avea efecte inhibitorii asupra vitaminei A-esterazei hepatice (nucleară și microzomală), ca și p-clormercur-benzoatul și compușii organofosforici.

Căldura și acetona (0—5°) distruge vitamina A-esteraza.

Vitamina A-esteraza din funcțiile nucleare și microzomale ale ficatului de pui au pH optim de 6,6 și 8,6.

1.12. Mecanisme de biochimie farmacodinamică

Vitaminele A mai intervin, în afară de procesul biochimic din ciclul vizual, la formarea coenzimei rodopsina și în activitatea unor enzime ce iau parte la metabolismul lipidelor, glucidelor și proteinelor, precum și la activarea enzimei vitamin A-esteraza, care este implicată în depozitarea în ficat a vitaminei A sub formă de esteri ai retinolului.

În metabolismul lipidic, vitamina A intervine în oxidarea acizilor grași, stimulează activitatea enzimei colesterol-oxidaza, influențează biosinteza gliceridelor, fosfolipidelor, controlează activitatea enzimelor, Δ^5—3—β—hidroxisteroid-dehidrogenazei, a steroid-11-β—hidroxilazei, a scualen-oxidociclazei, intervenind astfel în biosinteza hormonilor steroizi (corticosuprarenali și sexuali : androgeni, estrogeni, gestageni).

Corelația dintre vitamina A și metabolismul glucidic se manifestă nu numai prin faptul că vitamina controlează activitatea enzimei L-gulonolactonoxidazei în procesul de transformare a glucozei în acid ascorbic (40), dar și prin aceea că un aport cantitativ alimentar de glucide (glucoză, rafinoză, celuloză etc.) determină o scădere a nivelului vitaminic A din depozitul hepatic.

Vitamina A controlează activitatea enzimelor ATP-sulfuridaza și sulfotransferaza din procesul de biosinteză al mucopolizaharidelor, în special al celor din osteoide, care participă la creșterea oaselor și formarea dinților; de asemenea, mai intervine în activitatea osteoclastelor și osteoblastelor, mai ales în perioada de creștere a organismului.

Vitamina A influențează biochimismul mucoaselor și al pielii, stimulînd biosinteza acizilor nucleici, favorizînd astfel biosinteza proteinelor, accelerînd cicatrizarea mucoaselor și a pielii ; inhibă formarea legăturilor -S-S și deci sinteza keratinei.

Scanned with OKEN Scanner

1.13. Vitaminele A în celule—în stări fiziologice și fiziopatologice

1.13.1. **Hipovitaminoza.** Existența stării de hipovitaminoză este indicată prin cantitatea de vitamină A din plasmă, care se află sub 50 UI/100 ml plasmă, respectiv 17 μg/100 ml.

Carențele de vitamină A pot să apară din cauze alimentare și patologice.

Deficitul alimentar poate surveni în urma unei hrane sărace în provitamine, vitamine, grăsimi și proteine.

Carența de vitamină A este accentuată în malnutriția locuitorilor din țările tropicale din sud-estul Asiei, Africei și din țările latino-americane.

În malnutriția gravă există și o scădere a proteinelor totale serice, care contribuie și la scăderea cantitativă a vitaminei A, din cauza existenței unui nivel foarte scăzut a proteinei transportoare (RBP) a vitaminei A în organism.

Combaterea malnutriției prin suplimentare cu aminoacizi (lizină, triptofan etc.) determină și o creștere a vitaminei A.

Dintre cauzele patologice amintim : cazurile în care bila se găsește în cantități mici sau lipsește; de ex., în icterul prin obstrucție sau fistula biliară, s-au observat și carențe de vitamină A, întrucît pentru absorbția vitaminei și a carotenului este necesară prezența bilei. De asemenea, s-a observat că în dietele sărace în grăsimi are loc o absorbție insuficientă de caroten și vitamină A. Aceeași situație s-a remarcat și în cazul steatoreelor din sprue, a bolii polichistice a pancreasului, în lipodistrofia intestinală (boala Whipple), în steatoreea idiopatică, precum și în cazul extirpării chirurgicale a unor porțiuni din intestin. De asemenea, în cazul unei ciroze hepatice poate să apară și o stare de hipovitaminoză A, întrucît în această maladie este tulburată și depozitarea vitaminei A.

O carență de vitamine A s-a mai observat în diabetul zaharat, hipotiroidism și în mixedem, deoarece în aceste maladii este împiedicată transformarea carotenului în vitamina A.

Hipovitaminoza A provoacă afecțiunile oculare care au fost descrise.

Deficitul în retinol poate determina alterarea metabolismului acetatului și micșorarea glicogenozei. Tot în asemenea condiții experimentale, s-a observat că la șobolan apare o scădere a biosintezei colesterolului și o creștere cantitativă a squalenului în ficat. Aceste modificări au fost puse pe seama unei funcții anormale a corticosuprarenalei, datorată degenerării anumitor celule de la acest nivel și, în ultimă instanță, a încetării biosintezei hormonului glucocorticoid suprarenalian și anume a corticosteronului.

Scanned with OKEN Scanner

Deficiența vitaminei A în acest caz poate fi considerată ca o „adrenalectomie chimică" (36). De asemenea, s-a emis și ipoteza că vitaminele A exercită o influență indirectă asupra biosintezei glicogenului, printr-un efect asupra biosintezei hormonului adrenalitic (179). Aceste efecte ale carenței în vitamina A au fost confirmate prin examene histologice, care au demonstrat o perturbare în acele celule corticosuprarenale care produceau hormoni corticoizi mult înainte de a fi apărut o scădere a neogenezei de glicogen.

T. Dingle și A. Lucy (41) au menționat că unul din rolurile fiziologice ale vitaminei A poate fi de stabilizator al membranelor prin acțiunea de agent de legare încrucișată între lipidul și proteina membranei. Deoarece excesul de retinol are ca rezultat creșterea permeabilității membranei, aceasta a dus la concluzia că, în absența factorilor de stabilizare adiționali, membranele ce conțin vitamina A sînt instabile.

Vitamina A poate modifica permeabilitatea membranei lizozomale, permițînd enzimelor accesul la substratele externe. Lizozomii sînt considerați ca particule citoplasmatice care au funcție digestivă și care conțin hidrolaze acide ; particulele sînt înconjurate de membrană care, în condiții fiziologice normale, nu permite interacțiunea enzimelor cu substratele externe (41).

Datorită acțiunii pe care o are vitamina A asupra stabilității membranei lizozomale, a fost categorisită drept „labilizator membranar" (41, 42).

S-a constatat că instabilitatea membranei, produsă de un exces de vitamină A, este larg prevenită de vitamina E. Astfel, eliberarea hemoglobinei, care apare în 15 minute la 37°C prin tratarea eritrocitelor de iepure cu vitamina A (15 μg/ml), este inhibată de acetat de α-tocoferol, cînd acesta este prezent în cantitate echimoleculară.

În absența vitaminei E, acțiunea hemolitică a vitaminei A este accelerată de cloramine. Oxidarea excesului de vitamină A în cadrul membranei eritrocitare pare a fi factorul primar în eliberarea rapidă a hemoglobinei, care intervine în absența vitaminei E.

Carența în vitamina A provoacă uscarea și întărirea țesutului mucosecretor. Vitamina A reglează formarea mucopolizaharidelor, iar un deficit în vitamină A micșorează biosinteza.

Cercetările „in vitro" cu segmente și omogenate de colon au arătat că vitamina A are un rol direct în biosinteza mucopolizaharidelor colonului.

Carența în vitamină A a scăzut încorporarea S^{35} din sulfat în mucopolizaharidele colonului, iar adăugarea de vitamină A a redus activitatea la o încorporare normală. Se crede că acest proces se datorează influenței exercitate asupra activității sulfatului, în sensul formării adenozin-

Scanned with OKEN Scanner

fosfosulfatului ; în această reacție, activitatea enzimei este condiționată de prezența vitaminei A sau al unui derivat al său (43).

Lipsa vitaminei A din alimentație provoacă o uscare și keratinizarea epiteliilor. Cele mai afectate sînt epiteliile care au funcții mucosecretoare din glande și din diferite organe ale animalelor.

Hiperkeratinizarea se datorează deficitului de vitamină A și se manifestă, mai ales, la nivelul ochiului prin keratinizarea corneei și conjunctivei, dînd xeroftalmie, și la nivelul mucoaselor respiratorii, intestinale și genito urinare, unde apar diferite leziuni.

Procesul keratinizării oculare duce la o metaplazie a canalelor lacrimale, avînd ca rezultat o pierdere completă a capacității de secreție dînd, astfel, posibilitatea invaziei bacteriene. La nivelul ochiului, apar modificări ale epiteliilor conjuctivale, fenomen care este cunoscut sub numele de **xeroftalmie** și se manifestă prin uscarea epiteliilor (xerază). Aceste efecte au condus la denumirea vitaminei A—vitamină antixeroftalmică.

Secreția celulelor mucoasei glandelor lacrimale este tulburată ; ochiul deschis nu mai prezintă luciu, apare senzația de corp străin, datorată uscării corneei, care se edematiază și se poate necroza instalînd procesul de **keratomalacie.** În cele mai multe cazuri, pe cornee, la început își face apariția un punct alb, care se mărește cuprinzînd toată corneea. În acest stadiu, invazia bacteriană este din ce în ce mai puternică, din cauza lipsei lacrimilor care conțin lizozim (agent de protecție antiinfecțios), fapt care duce la perforarea corneei și la orbire (44).

Alte manifestări ale leziunilor epiteliale sînt : epidermă îngroșată, uscată și scleroasă, foliculii părului măriți și celulele, care formează emailul dentar, prezintă o dezvoltare anormală.

Hipovitaminoza A provoacă la nivelul tegumentelor atrofia foliculilor piloși ai glandelor sudoripare și sebacee, cu apariția unei hiperkeratoze a epidermului, pielea avînd aspectul de „piele de broască rîioasă", care se întîlnește mai ales la adolescent, pe cînd la copil, în asemenea condiții, apare o piele atrofică și uscată. Părul își pierde luciul, devine uscat și se sfarmă ușor.

Pe piele pot apare pigmenți sau papule keratinoase, care sînt dure și care apar întîi la regiunea antero-laterală a antebrațelor, iar într-o fază mai avansată se extinde pe întreaga suprafață a pielii.

În unele cazuri apar întîi foliculii hiperkeratozici pilosebacei, care se generalizează pe toate regiunile organismului, în afară de regiunea capului.

Papulele se pot infecta ușor, apărînd pustule și răni purulente.

Hiperkeratoza poate duce la astuparea canalelor sebacee, după care acestea se atrofiază, și apoi la sistarea dezvoltării normale a părului.

Aceste fenomene cutanate apar și la unele animale, în special la șobolani, cîini și bovine.

Keratinizarea la nivelul mucoaselor se manifestă prin diferite simptome : la nivelul mucoasei nazale apar rinite atrofice, care pot deveni ozenoase cu anosmie, iar la nivelul laringelui apar răguşeli persistente, de durată.

De asemenea şi mucoasa bucală este keratinizată, în special mucoasa gingivală care îşi pierde luciul specific ; smalţul dentar îşi schimbă structura iar dentina devine deformată.

Secreţia glandelor gastrice se micşorează pînă la achilie, apar tulburări intestinale, care se manifestă prin scaune sanguinolente foarte frecvente.

Glandele pancreatice suferă modificări, care se manifestă prin blocarea secreţiei acinilor glandulari care se închistează, lipsind astfel procesul metabolic de aportul pancreasului, fapt ce determină stări patologice importante, prin lipsa de insulină.

Mucoasa pulmonară şi bronşică, în carenţă de vitamină A, formează, mai ales la copii şi bătrîni, medii favorabile infecţiilor bronhopneumonice, apărînd bronhopneumonii şi bronşiectazii care, dacă nu sînt supuse terapeuticii adecvate, dau un procent de mortalitate ridicat.

De asemenea, lipsa vitaminei A din alimentaţie duce la o scădere a funcţiei renale şi este o condiţie a apariţiei calculilor urinari. Datorită faptului că epiteliul din tractul urinar ia parte la modificările generale ale tuturor epiteliilor, s-a concluzionat că resturile epiteliale formează nucleii calculilor care se dezvoltă.

K. Subba Rao şi col. (45) au constatat că activitatea enzimelor ficatului şi mucoasei intestinale pentru sulfurilarea fenolului au fost semnificativ reduse la animalele cu deficienţă de vitamină A, iar activitatea scăzută poate fi restaurată prin adăugarea de retinol sau acid retinoic. Lizozomii din ficatul şobolanilor cu hipervitaminoză A eliberează mai multă ribonucleoză β-glicerofosfat-fosfatază şi arilsulfataze A şi B (78).

De asemenea, s-a observat că animalele cu carenţă în vitamina A au o excreţie redusă a sulfaţilor esteri, în schimb, creşte cantitatea de sulfat N anorganic în urină, după injectarea intraperitoneală de $Na^{35}SO_4$.

Carenţa de retinol tulbură gametogeneza la mai multe specii : şobolan, şoarece, cobai, iepure, bovine, cîine, porcine, galinacee şi om.

La femelele cu carenţe pronunţate, tulburările în gametogeneză determină keratinizarea epiteliului vaginal (colpokeratoză) şi a mucoasei uterine, ceea ce prejudiciază implantarea zigotului. În cazul unei deficienţe uşoare, evoluţia este posibilă, dar la animale, o parte din ovule rămîn nefecundate, iar o parte degenerează după implantarea în mucoasa uterină, făcînd ca reproducerea să fie cu 15—20% mai redusă decît la animalele hrănite normal.

S. Juneja şi col. (46) susţin că are loc şi o producere ovariană de pregnenolonă în carenţele de vitamină A_1.

Scanned with OKEN Scanner

Experimentările lui Ganguly J. (47) au arătat că, în carența de retinol la animale, dacă se administrează acid retinoic, secreția ovariană de progesteron este mai scăzută, fapt care poate fi remediat prin administrarea vitaminei A sub diferite forme. De asemenea, Juneja și col. (46) au constatat că resorbția fetală are loc la șobolanii tratați cu acid retinoic, acest fapt putînd fi prevenit prin aplicarea unei terapii hormonale începînd din ziua a 8-a de sarcină. Ei au mai constatat că ovarele șobolancelor tratate cu acid retinoic sînt incapabile să efectueze în întregime funcția steroid secretorie. Tot la această specie de animale tratate cu acid retinoic s-a observat (81), la unele exemplare, că din ziua a 13-a de sarcină activitatea 3-β-hidroxi-Δ^5-steroid dehidrogenazei ovariene este mai scăzută, la fel ca în hipertrofia compensatorie ovariană la femelele de șobolan neînsărcinate, tratate cu acid retinoic; de asemenea, s-a observat că retinolul activează enzima arilsulfataza și inhibă β-glucoronidaza.

J. Mc. Howel, J. N. Thompson, G. A. J. Pitt au constatat că 3-dehidroretinolul (vitamina A_2), spre deosebire de acidul retinoic, poate menține reproducerea la femelele de șobolan și că vitamina A acționează în reproducere ca retinol și retinal.

La mascul, avitaminoza A inhibă dezvoltarea testiculului și provoacă degenerarea celulelor germinative. Greutatea testiculelor șobolanilor hrăniți cu regim deficit (în vitamine A) a reprezentat numai circa jumătate din greutatea testiculelor la animalele din lotul de control (0,54 g față de 1,15 g). În primul stadiu degenerează spermatozoizii pe cale de maturare și obstruează lumenul tubilor seminiferi; fluidul spermal devine sărac în spermatozoizii mobili (oligospermie). Pe măsură ce carența avansează, procesul degenerativ cuprinde spermatidele și spermatocitele, ducînd la azospermie și la sterilitate.

Întrucît spermatogoniile rămîn viabile și glanda interstițială este, în general, menajată, prin administrarea de vitamină A se poate restabili atît gametogeneza, cît și funcția sexuală și deci procesul este reversibil chiar în carență avansată.

Șobolanii masculi cu deficit în retinol, tratați cu acid retinoic, nu au menținut spermatogeneza. La găini scade considerabil producția de ouă.

J. Mc. Howell și J. N. Thompson (48) susțin că, la pui, deficiența în vitamina A a produs metaplazia epiteliului nazal respirator în formă atrofiată scuamoasă, precum și hernierea țesutului cerebral în sinusurile venoase. Cercetările histologice au arătat modificări în materia albă, unde apar tumorete axonice pronunțate, și modificări în periostul vertebrelor precum și în zona cartilagiului epifizei femurale, dar nu s-au găsit modificări în epifiza cartilagiului vertebral.

Deficiența acută de vitamină A produce, la unele femele ale șobolanului, o resorbție a fătului și, în contrast cu vitamina E, placenta este afectată înainte de a fi afectat fătul. În unele cazuri, femelele care

Scanned with OKEN Scanner

au reușit să poarte sarcina la primul termen au murit înainte de naștere sau în perioada travaliului, care a fost foarte dificil. De asemenea, s-au observat malformații congenitale la fețiii de șobolan și de porc în condițiile unei carențe de vitamină A.

Purceii care proveneau de la mame cu deficit în vitamina A au avut unele anomalii și infirmități :

— defecte oculare (prezența unei membrane retrolenticulare în locul corpului vitros, leziuni retiniene etc.) în proporție de circa 49% ;

— anomalii ale aparatului excretor (hipoplazii, fuziuni sub formă de rinichi în potcoavă de cal) 37%, rinichi deplasați, hernii diafragmatice (mai ales pe partea dreaptă) în proporție de 31%, defecte ale arcului aortic și ale inimii, 13%, urechi accesorii, buză de iepure, palat despicat, hidrocefalie.

Cazuri de anoftalmie sau microftalmie și microcefalie sînt citate de Lepschi și Larma la unii copii născuți de femeile care prezentau carență în vitamină A_1 (1).

Efectul insuficienței de vitamină A asupra embrionului se realizează atît direct, frînînd anabolismul proteic și proliferarea celulară, cît și indirect, prin afectarea secreției unor hormoni.

Cu ajutorul atomilor marcați, de exemplu cu colesterol marcat, folosit ca precursor în biosinteza corticosteroizilor, s-a observat că animalele carențate în vitamină A sintetizau unii hormoni (progesteron, corticosteron, dezoxi-corticosteron etc.) în cantități mult mai mici decît animalele necarențate, iar după administrarea vitaminei A capacitatea de biosinteză a revenit la normal.

La animalele numai pe jumătate deficitare în vitamina A, nu a fost afectat decît dezoxicorticosteronul.

Cercetările „in vitro“ au dus la concluzia că adăugarea de retinol sau acid retinoic duce la o biosinteză, cel puțin parțială, a corticosteronului din colesterol.

Experimentele efectuate pe diferite specii de animale au arătat că în lipsa vitaminei A apar degenerări ale nervilor cranieni, mai ales a nervului optic, olfactiv și acustic, precum și a rădăcinilor nervilor periferici și rahidieni.

La animalele tinere în creștere apare o herniere a substanțelor medulare prin găurile intervertebrale, precum și o herniere a substanței cerebrale în sinusurile venoase.

La șobolan, aceste degenerări nervoase apar într-o carență de 6—7 săptămîni și pot fi înlăturate prin administrarea unor cantități mici de vitamină A.

Carența vitaminei A mai produce modificări morfologice hipofizare și tiroidiene ; glanda tiroidă are proprietatea de a regla transformarea carotenului în vitamină A.

Scanned with OKEN Scanner

La indivizii cu hipertiroidie s-a găsit o cantitate mică de vitamină A în sînge și, în schimb, o cantitate mărită de caroteni, ceea ce a explicat rolul tiroidei în transformarea carotenului (53, 48).

Observațiile efectuate la animale asupra carenței de vitamină A au arătat că, la animalele în stare prenatală și de creștere postnatală, această vitamină dirijează atît forma cît și textura oaselor printr-un proces de dirijare a amplasării și activității osteoclaștilor și osteoblaștilor (49). Această acțiune diferă de la specie la specie. La animalele tinere, de ex. căței, oasele se îngroașă, în special cele compacte, ducînd la compresiuni pe nervi, mai ales la nivelul găurilor osoase pe care le parcurg nervii cranieni ; de asemenea, s-a constatat și o micșorare a cutiei craniene.

În stările de carență vitaminică A, s-a observat că apăreau diferite infecții spontane și febră, ceea ce a determinat denumirea de „vitamină antiinfecțioasă", deoarece s-a presupus că această vitamină exercită un rol activ în apărarea organismului față de diverși agenți patogeni biologici, fapt ce a determinat, în perioada inițială, ca vitamina A să fie recomandată și folosită în mijloacele terapeutice la combaterea unor boli microbiene (febră puerperală, bronhopneumonie etc.) (49).

Cercetările experimentale pe iepuri, șobolani și cobai au demonstrat că vitamina A nu are acțiune antiinfecțioasă, dar deficiența ei în organism micșorează rezistența acestuia față de unele microorganisme patogene (Bacillus pyoceaneus, S. typhimurium etc.), chiar înainte de a se ivi simptomele de carență vitaminică.

Alterarea epiteliului mucos prin carența vitaminei A poate potența agresivitatea florei, care invadează organismul provocînd o boală septicemică mortală (salmoneloză, colibaciloză, pasteureloză), pe bază nutritivă, prin alterarea biochimismului celulelor epiteliale care constituie, în cazul dat, poarta de intrare. Rezistența naturală a scăzut prin lipsa din organism a unui metabolit esențial pentru funcția celulei epiteliale.

Indicele fagocitar în avitaminozele accentuate s-a găsit foarte scăzut, ca și numărul de eritrocite; unele eritrocite la om au prezentat degenerescență, iar în unele cazuri s-a observat leucopenie cu granulocitopenie.

Experimentările pe animale cu deficit în vitamina A, dar cu o dietă în care α-tocoferolul era la limită normală sau ușor mărită, au arătat o activitate crescută a fosfatazei libere și totale lizozomale, mitocondriale.

Malathi P. și col. (50) susțin că șobolanii, deficienți în vitamină A, atunci cînd au fost hrăniți cu 10 μg acid retinoic sau vitamina A acetat pe zi, s-au dezvoltat normal. O singură doză de 500 μg acid retinoic poate susține creșterea șobolanilor deficienți în vitamina A timp de 4 săptămîni.

Unii cercetători (50), folosind în experimentările lor pe șobolani cu carență în vitamină A administrarea unor derivate de retinol, au realizat o scală a reactivității vitaminei A :

Scanned with OKEN Scanner

Biopotența unor retinoide (50)

— retinol acetat 100%
— acid retinoic (metil ester) 100%
— 5—6 epoxiretinal ..... —108%
— 5—8 epoxiretinal 60%
— metil 5, 8 epoxiretinoat 80%

Autorii ajung la concluzia generală că fiecare schimbare în molecula de retinol, cu excepția schimbărilor la C_{15}, coboară biopotența în ceea ce privește creșterea animalelor.

1.13.2. Hipervitaminoza

1.13.2.1. *Hipervitaminoza la animale.* Squilb R. L. susține că un supliment de vitamină A în hrana normală a puilor scade incidența și severitatea unor boli (coriză, febră tifoidă), a unor parazitoze (capilaria, monilia), precum și reducerea stres-ului caloric; de asemenea, și la bovine, reduce efectele stres-ului (Brocklesley N.).

Abuzul de retinol provoacă la animale și om o serie de tulburări. O hrană abundentă cu vegetale care conțin caroteni (ardei kapia, gogoșari, morcovi, spanac etc.) determină apariția xantozei cutanate — colorîndu-se mucoasele și pielea.

Hipervitaminoza experimentală pe șoareci, șobolani, berbeci, porci, iepuri a indicat existența unei intoxicații care s-a manifestat prin: pierderea în greutate, dispariția luciului blănii, căderea părului; de asemenea, apar edeme ale botului și ochilor, iar în jurul pleoapelor sînt cruste, apare decalcifierea masivă, care nu poate fi împiedicată de administrarea vitaminei D; la animalele adulte apar hemoragii interne.

J. N. Thompson, C. Howell și G. Pitt susțin că animalele de laborator, care au primit mari cantități de acid retinoic, au fost predispuse la fracturi multiple și au murit înaintea martorilor.

R.L. Cruess și I. Clark (52) menționează că, administrarea vitaminei A în cantități toxice, scade conținutul acizilor grași din oasele lungi la șobolanii normali, cu hipervitaminoză A și D.

Cercetările experimentale efectuate pe animale (cîini, șobolani) cu hipertensiune arterială au arătat că administrarea în cantități mari, per os, a vitaminei A provoacă o scădere a TA.

Enescu L. și col. (51), provocînd la șobolani hipervitaminoza A, au observat o excreție intensă a 17-cetosteroizilor urinari, precum și stimularea consumului de oxigen hepatic cu creșterea permeabilității membranelor celulare și mitocondriale; o scădere ponderală, cu inapetență seboree generalizată, însoțită de alopecie parțială și steatoză hepatică.

Scanned with OKEN Scanner

1.13.2.2. *Hipervitaminoza la om.* Fenomenele de intoxicaţie cu vitamina A apar atunci cînd se ingeră cantităţi mari de vitamina A. La eschimoşi, consumarea ficatului de urs alb (care conţine pînă la 50 000 UI/g), precum şi a cantităţilor mari de peşte, provoacă o intoxicaţie acută (vărsături, cefalee, somnolenţă, ameţeli, precum şi descuamări ale pielii din jurul gurii, fisuri labiale).

La copii, în timpul tratamentului cu vitamina A a unor afecţiuni dermatologice sau în scopul stimulării creşterii, cînd dozele sînt prea mari, pot apare intoxicaţii cronice, care se manifestă prin : prurit, în special anal sau vaginal, cefalee, dureri articulare, fisuri săngerînde la comisurile bucale, xerodermie, insomnie, anorexie, conjunctivită, rărirea părului de pe cap, hepatomegalie, splenomegalie, delir, confuzii, transpiraţii nocturne, tumefieri la cot şi gambă şi modificări osoase mai ales metatarsiene şi radiale, care ulterior cedează, după sistarea administrării de vitamină A. În timpul graviditătii, suplimentarea dietelor cantitativ, cu retinol, a dus la naşterea de copii malformaţi.

La unele persoane, simptomatologia hipervitaminozei a apărut după 6 luni de la administrarea cantitativă a vitaminei A, manifestîndu-se prin tumefacţii subcutanate, îndeosebi în regiunea plantară, la gambă ş.a., hipertensiune intracraniană, în special la copii, şi hipercalcemie.

1.13.2.3. *Observaţii morfologice şi biochimice.* Cercetările efectuate de J. T. Dingle şi col. (16) menţionează că acţiunea vitaminei A asupra fibroblastelor in vitro cauzează dilatarea membranei celulare care, în final, se dezintegrează ; de asemenea, poate fi afectată şi membrana nucleară. Aceiaşi autori afirmă că excesul de vitamină A dezorganizează structura membranelor diferitelor tipuri de celule şi a particulelor intracelulare. Această acţiune arată că vitamina A interacţionează cu componenţii structurali ai membranelor. Schimbările în structura membranelor pot duce la o varietate de efecte, inclusiv schimbări în metabolism şi în matricea cartilagiului.

Vitamina A poate împiedica depolimerizarea acizilor nucleici din nucleii celulelor din straturile superioare ale epidermei, inhibînd activitatea dezoxiribonucleazei.

U.K. Mistra conchide, după experimentări efectuate pe şobolani, că hipervitaminoza A duce la o creştere a lipidelor în ficat, intestin, creier şi că acestea scad în rinichi. În schimb, colesterolul a fost găsit cu valori mari în toate ţesuturile, cu excepţia inimii, iar fosfolipidele tisulare şi metaboliţii lor au fost afectaţi de hipervitaminoza A, cu excepţia rinichiului unde s-a găsit o creştere semnificativă.

Scanned with OKEN Scanner

Enescu L. și col. (51) au demonstrat, experimental, că vitamina A influențează excreția 17-cetosteroizilor, fie direct, participînd la sinteza progesteronului și deci a hormonilor androgeni, fie indirect, stimulînd pînă la epuizare glandele suprarenale, prin intermediul stres-ului hipervitaminic. De asemenea, au arătat că există o stimulare a consumului de oxigen hepatic în hipervitaminoză, cu creșterea permeabilității membranelor celulare și mitocondriale.

J. T. Dingle și col. (16), prin culturi de țesuturi a cartilajului embrionilor de pui în mediu cu hipervitaminoză A, au observat o scădere de 80% a ADN și 40% a ARN, precum și o scădere a ratei absorbției oxigenului molecular, cu o creștere a ratei formării acidului lactic. De asemenea, autorii au găsit o creștere a activității proteolitice în prezența vitaminei, evidențiată prin dublarea azotului acido-solubil a mediului de cultură.

J.T. Dingle și J. A. Lucy cred că excesul de vitamină A are influență asupra cartilajului prin eliberarea uneia sau mai multor enzime proteolitice, probabil catepsine, din lizozomii condrocitelor, care apare cînd țesutul este cultivat in vitro cu exces de vitamină A. Această idee este susținută și de faptul că vitamina A eliberează o enzimă proteolitică cu un pH acid optim pentru lizozomii din ficatul de șobolan.

În hipervitaminoza A crește permeabilitatea condrocitelor și a fagocitelor peritoneale cu eliberarea hidrolazelor acide: g-6-P-aza, ribonucleaze, fosfataze acide, arilsulfatazele A și B etc.

Autorii mai menționează că vitamina A modifică permeabilitatea membranei celulare a eritrocitelor incubate in vitro. H. B. Fell și Dingle Y. T. (53) susțin că un loc de acțiune a vitaminei A se află în membranele lipoproteice ale celulei și ale organitelor celulare.

Experimentările pe șobolani în gestație, care au primit per os 500—30 000 UI retinol pe zi, în prima jumătate a gestației, sau numai 3—4 zile în săptămîna a 2-a a provocat apariția diferitelor malformații la 30—50% din primii descendenți (spina bifida, platoschizis, cheiloschizis etc.).

Excesul de vitamină A determină hipertensiune intracraniană care, la rîndul ei, produce edem papilar de stază, cu hemoragii. S. Mihail (54) afirmă că vitamina A împiedică absorbția vitaminei C, dă tulburări osoase de hipervitaminoză A și hipertensiune oculară, care s-ar datora modificării conținutului umoral apos în acid ascorbic; de aici și tratamentul în asemenea situații cu vitamina B și C.

În patologia umană n-au fost semnalate pînă acum în hipervitaminoza A manifestări teratogene. Totuși, experimental, pe animale s-a constatat: anoftalmie, aplazia pleoapelor, cataractă, pliuri retiniene, fibroză retiniană (54).

Scanned with OKEN Scanner

Diezi J. relatează hipervitaminoză A la o femeie de 62 ani, a cărei simptomatologie prezenta o anemie hemolitică ; examenul anatomopatologic a arătat acumulare de lipide și derivați ai vitaminei A în ficat, splină și măduva osoasă.

1.13.3. În starea fiziologică normală

a. Cantitățile necesare organismului animal în stare fiziologică normală au o acțiune de protecție față de intoxicațiile cu cloroform a celulelor hepatice; în schimb, administrarea unei cantități mari de retinol provoacă o încărcare a celulelor Kupffer cu substanțe și hipertrofia lor.

La indivizii cu dietă corectă, concentrația vitaminei A în ser este de 30—50 μg%, în timp ce concentrația carotenului variază între 50—150 μg%. În ficat se depozitează circa 90% din rezervele de vitamină A din organism. O dată cu înaintarea în vîrstă s-a observat că sporește și cantitatea de vitamină A depozitată în ficat; la adulți s-a găsit 60—120 μg vitamină A/1 g substanță hepatică.

b. Vitamina A nu este excretată prin urină ca atare, însă administrarea unor cantități mari la persoane normale nu provoacă decît o ușoară creștere a diurezei, care se menține un timp nu prea îndelungat, eliminîndu-se glucoronații și acidul retinoic (79). Se elimină din organism prin fecale și bilă, și, numai în cazuri patologice, prin urină.

Enescu L. (14, 36) susține că vitaminele A influențează metabolismul calciului prin favorizarea biosintezei mucopolizaharidelor din osteoide, care participă la procesul de creștere al osului și la formarea dinților.

1.14. Interrelația vitaminei A cu vitamine și substanțe medicamentoase

Unii autori (55), prin cercetări ample, constată la om și animale existența unei corelații statistice în ser între conținutul în vitamină A și vitamină C.

Prezența în regimul alimentar al șobolanilor a unei cantități suboptime de vitamină A a dus la scăderea vitaminei C în plasmă. De asemenea, în stările de carență în vitamină C a vacilor s-a găsit o scădere cantitativă a vitaminei C în plasmă și în țesuturile acestor animale (5).

McGrow C. R. (56) ajunge la concluzia că aportul de vitamină A nu crește nevoia de vitamină C, ci întîrzie manifestarea scorbutului, în timp ce vitamina D accelerează apariția acestei maladii. Tot acest autor constată că, în condiții de temperatură a mediului ambiant, adăugarea zilnică a 0,075 mg vitamină A la un regim alimentar, împreună cu 5 mg vitamină C, determină o mărire a creșterii ponderale de 90,5% în 31 zile la animale, în perioada de creștere a acestora.

Scanned with OKEN Scanner

O serie de cercetări experimentale au dovedit că asupra fenomenului de creștere a șobolanilor carentați de vitamină A, asocierea acesteia cu vitamina E și caroten a prezentat un efect superior față de utilizarea numai a vitaminei A. De asemenea, s-a observat că la șobolanii tineri în creștere necesarul de vitamină A este mai mic dacă se adaugă un exces de vitamină E în hrană ; tot la această specie de animale s-a mai observat că acțiunea vitaminei A în doză de 1,5 UI/zi este mult mai activă dacă se administrează simultan și vitamina E . Experimentările au mai arătat că șobolanii supuși unui regim sărac de vitamină A și E, dar care primesc 1,2 μg de caroten/zi, nu-și schimbă greutatea după 40 zile, în schimb cei care primesc în plus 0,2 μg tocoferol cîștigă în greutate.

Efectele favorabile ale asocierii vitaminelor A și E s-au observat în acțiuni antiaterosclerotice, studiate pe găini bătrîne și cocoși tineri tratați cu colesterol.

Administrarea simultană a vitaminelor A și E a determinat întotdeauna o reducere marcată a ateromatozei, cu o diminuare considerabilă a plachetelor de grăsimi și a conținutului de lipide totale, precum și micșorarea cantitativă a colesterolului din aortă.

Sickova A. (57), administrînd vitamina B_{12}, vitamina C și calciu simultan, într-un regim sărac în vitamina A și D la șobolan, a observat o retenție a calciului, tot așa de bună ca în cazul unui aport adecvat a două vitamine liposolubile, fără a se modifica retenția de fosfor ; în schimb, în condițiile unui aport slab de vitamină A și Ca, administrarea vitaminei A sau D nu a dat o ameliorare a retenției de Ca, P și N.

I. Van Burggen (58) face remarca că la bolnavii tratați cu vitamină C timp îndelungat nu s-a constatat nici o modificare a conținutului în vitamină A la nivelul sanguin.

Enescu L. (36) menționează faptul că o carență în vitamina A și C provoacă calciurie, iar administrarea lor înlătură pierderile de calciu pe cale renală. În reglarea calcemiei, vitamina A participă într-o măsură mai mică decît vitamina D și C.

André L. N. și col. au observat că la om ingerarea dozelor mari de vitamină A (200 000 UI/zi) provoacă o creștere a ascorburiei.

Moore T. relatează experimental că, dacă animalele sînt private de vitamina E și primesc 1 mg de caroten, în ficat se găsesc 86 UI/g, iar dacă se asociază și tocoferol, atunci se găsesc 100 UI/g.

Experimentele lui Phillips W. E. J., efectuate pe șobolani, timp de 150 zile, cu un regim carențat în α-tocoferol, dar care conține vitamina A în doză adecvată creșterii animalelor (240 μg/kg), au scos în evidență că vitamina A nu a înlocuit acțiunea vitaminei E.

În cercetările lui Pudelkiewicz W. J. (59), ca și a altor autori, se menționează că excesul de vitamină A are o acțiune defavorabilă asupra cantității de vitamină E.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţele efectuate pe pui de găină hrăniţi cu o alimentaţie săracă în vitamină A, dar care conţinea 17 mg acetat de tocoferol/kg, au condus la constatarea unei scăderi marcate a concentraţiei de vitamină E în ţesutul hepatic, precum şi în plasmă.

Unii autori (60), tratînd şobolanii cu doze variate de vitamină A, constată că, după 37 zile, concentraţia în ubiquinonă creşte pe măsură ce conţinutul în vitamină A al regimului cu vitamină A scade.

Creşterea concentraţiei de ubiquinonă hepatică în carenţa de vitamină A s-a observat în special în microzomi şi în supernatantul hepatic, dar nu în intestin şi rinichi. Coenzima Q şi ubicromenolul (izomerul ubiquinonei) au fost reţinuţi în ficatul animalelor carenţate în vitamină A, în cantităţi mai ridicate şi un timp mai îndelungat, decît la subiecţii normali.

Sînt autori (61) care au urmărit la şobolanii deficitari în vitamină A nivelul vitaminelor A şi E, dar şi al ubiquinonei în diferite organe (tabelul 15).

Tabelul 15

Concentraţia vitaminelor A, E şi ubiquinonei la şobolanii cu hipovitaminoză A (61)

Zile de dietă fără vit. A	Greutate	Ficat		Testicul	Sînge	
		ubiquinonă µg/g	Vit. A UI/ 100 mg	ubiquinonă µg/g	Vit. A UI/100 mg	Vit. E UI/100 mg
0	80	136	2347	20	100	0,96
8	104	174	621	27	78,5	1,17
14	153	198	166	27	60,9	1,37
21	177	250	46	31	46,7	1,30
28	158	315	13	33	24,8	1,34
37	—	418	—	53	23,9	1,13

Scăderea rezervelor de vitamină A din ficat este însoţită de o scădere lentă de vitamină A din sînge şi o creştere a ubiquinonei din ficat şi testicul.

Observaţiile experimentale făcute asupra relaţiei dintre deficienţa vitaminei A şi ubiquinonă au dus la concluzia că animalele deficitare, hrănite cu ubiquinonă cu C^{14}, au excretat prin urină cam de trei ori mai mult C^{14} decît animalele normale.

Laksmann R. şi col. (62) susţin că o creştere a ubiquinonei hepatice nu este cauzată de o biosinteză mărită ci, mai curînd, de o întîrziere a catabolismului ubiquinonei.

Scanned with OKEN Scanner

Clarck Y. și Cobourn W. au constatat că injectarea zilnică de 3 mg cortizon, timp de 13 zile, scade rezerva de vitamină A la șobolani cu circa 20 %, datorită creșterii nivelului din sînge a vitaminei.

Cercetările au stabilit și alți factori care au proprietatea de a elibera vitamina A din ficat. De ex. la cîini, vaci și capre, alcoolul etilic crește nivelul din sînge al vitaminei A, la om însă, s-a putut pune în evidență o creștere a vitaminei A după administrarea de vin ; în schimb, s-a găsit că alcoolul produce o inhibiție la om în adaptarea la întuneric.

Autori ca Goernet A., Clayton C. arată că unele substanțe cu acțiune carcinogenetică influențează metabolismul vitaminei A.

Experimentările pe iepuri și șobolani cu 1, 2, 5, 6-dibenzantracen (DBA), metilclorantrenul, benzpiren, au demonstrat o scădere imediată a vitaminei A din ficat după administrarea acestor substanțe. Unii autori susțin că dibenzantracenul este competitiv cu vitamina A, pentru un loc de legare cu o proteină specifică din ficat.

Vitaminele A și K se opun variațiilor cronaxiei determinate de adrenalină.

Vitamina A nu se administrează o dată cu medicamentele care conțin caolin, întrucît acesta absoarbe retinolul și nu-l mai cedează.

De asemenea, oleul de parafină împiedică absorbția intestinală a vitaminei A din alimente sau medicamente.

Substanțele : clorura de calciu, florura de sodiu, tourocolat de Na, $Tween_{20}$, p-nitrofenil-fosfatul, compușii cu arsen în general, dar mai ales arsenitul de Na, dietilaminoacetarsolul pot împiedica absorbția intestinală și depozitarea hepatică a vitaminei A, datorită efectului inhibant pe care-l au asupra enzimei „vitamina A-esterază", care este implicată în absorbția și depozitarea vitaminei în ficat.

Pentru mobilizarea vitaminei A din ficat necesară țesuturilor organismului, se recomandă administrarea zincului. În cirozele hepatice cantitatea de zinc din plasmă este micșorată ca și de vitamina A (hipovitaminoză A), apărînd tulburări de adaptare la întuneric (hemeralopie), care sînt înlăturate numai prin administrarea vitaminei A și a zincului ; tratamentul numai cu vitamină A s-a dovedit ineficace.

1.15. Necesarul în vitamină A al organismului uman

1.15.1. **La adult.** Necesarul de vitamină A la om variază în funcție de vîrstă, de stările fiziologice, și nu este influențat de mărimea consumului de energie.

Vitaminele din sînge au variații foarte sensibile nu numai în funcție de vîrstă, sex, stare fiziologică ci și în cadrul diferitelor ore ale zilei, la individul adult, de la 30 la 300 UI.

Unii autori (25) susțin că la adulți, în condițiile de alimentație ale Europei, valorile normale sînt cuprinse între 110—130 UI/100 ml plasmă;

Scanned with OKEN Scanner

alți autori menționează că vitamina A este de 100—300 UI/100 ml, ceea ce corespunde la 34—103 μg/ml.

Sub formă de retinol circulă în sînge în proporție de 80% ; forma de esteri ai retinolului, legați de lipoproteide cu densitate mică Sf : 10—100, asigură transportul de la peretele intestinal la ficat, unde are loc depozitarea. Ficatul este reglatorul vitaminei sanguine; cînd scade din cantitatea de sînge el eliberează vitamina A, iar cînd aceasta se află în exces, o înmagazinează.

Peterson P. A. susține că de la ficat retinolul este transportat spre țesuturile organismului, sub forma unui complex „prealbumine-proteine", care leagă retinolul denumit „RBP" („retinol binding protein").

Cantitatea de vitamină A din sînge rămîne un timp îndelungat în limite normale, înainte ca rezervele să fie epuizate.

La femei, valorile normale sînt inferioare bărbatului adult, sub 110 UI, iar în timpul sarcinii coboară mult în cursul ultimului trimestru, revenind la 48 ore după naștere, ceea ce demonstrează o mobilizare redusă hepatică în perioada sarcinii.

Valori mai mari de 300 UI semnifică faptul că organismul adult a primit cantități considerabile de vitamină A.

Cînd în plasmă se găsesc valori mai mici decît 30 UI, se poate interpreta : sau este o epuizare a rezervelor hepatice, datorată unei hrane deficitare mult timp în vitamină A, sau urmarea unei imposibilități de descărcare a rezervorului hepatic, datorată unei deficiențe a mecanismului reglator care, de exemplu, intervine în stările febrile. Unii autori susțin că o stare febrilă care se menține timp de 6 ore afectează mai mult valorile vitaminei A plasmatice, decît un regim hipovitaminic de mai multe luni.

Cerințele organismului uman au făcut obiectul multor cercetări (64, 65), iar Comitetul de experți ai Organizației Mondiale a Sănătății (O.M.S.) recomandă 5 000 UI pentru un adult de 70 kg greutate (tabelul 16) ; aceleași indicații le dă și Consiliul pentru cercetări medicale ale Marii Britanii, cu mențiunea ca 2/3 din acestea să fie aduse sub formă de caroten și 1/3 ca vitamină preformată. Cercetările făcute în Anglia pe indivizi voluntari, care au primit timp de 11—25 luni un regim alimentar lipsit de vitamina A, conținînd doar 70 UI caroten, au provocat o simptomatologie carențială numai la 19%, ceea ce a demonstrat că abia după un timp îndelungat are loc epuizarea rezervelor hepatice în vitamină A.

De asemenea, o serie de autori (12), Gounelle H. și Marnay, C. (25), ca și Comisia de Alimentație a Consiliului Național de Cercetări Științifice din S.U.A. și O.M.S., fac o serie de recomandări asupra rației zilnice necesare de vitamină A, rezumate în tabelul 16.

Tabelul 16

Normele de vitamină A recomandate în UI

Grupa de vîrstă	Gounelle și Marnay (25)	S.U.A. (41)	O.M.S. (34)
Nou-născut	1 500	—	—
0— 6 luni	—	500	1 400
6—12 luni	—	1 500	1 000
1— 3 ani	2 000	2 000	830
4— 6 ani	2 500	2 500	1 000
7— 9 ani	3 500	3 500	1 300
10—12 ani	4 500	4 500	2 000
Adolescenți	5 000	5 000	2 500
Adulți	5 000—6 000	5 000	2 500
Femei gravide	8 000	6 000	2 500
Femei care alăptează	8 000	8 000	4 000

1.15.2. **La copii.** La nou-născut rezerva hepatică în vitamina A este cam 1/10 din cea a adultului, ceea ce se epuizează în 22—23 zile de carență vitaminică. Concentrația în vitamina A a ficatului copilului nou-născut este scăzută, din cauză că placenta lasă să treacă o cantitate mică de vitamină A de la mamă. Cantitatea de vitamină A a nou-născutului crește gradat în timpul primelor săptămîni de viață, prin colostru și laptele matern ; cantitatea maximă de vitamină se găsește în lapte la începutul secreției lactate.

Alimentația artificială reduce masiv aportul de vitamină A, determinînd carențe cu efect patologic ocular și general la sugar.

Necesarul de vitamină A al unui copil este cuprins între 1 500—2 000 UI (O.M.S.).

La om, laptele matern conține vitamină A 3 500 UI/1, iar laptele de vacă nedigerat 2 400 UI/1, ceea ce înseamnă că este necesar, zilnic, 600 g lapte matern sau 800 — 900 g lapte de vacă, pentru acoperirea necesarului de vitamină A.

La nou-născut, valorile vitaminei A sînt cuprinse între 30—100 UI/100 ml plasmă.

Întrucît cantitățile utile de lapte la sugari sînt destul de importante, se impune a se socoti la aceștia aportul de vitamină zilnic, pentru a se înlătura hipovitaminoza sau avitaminoza.

1.15.3. **Hipovitaminoza — manifestări**

a. Semne clinice generale.
b. Semne clinice particulare.

a. SEMNELE CLINICE GENERALE se pot evidenția, în primul rînd, prin perturbarea creșterii, cît și a greutății sugarului, care pot fi încetinite sau oprite. Apare anemia și limfocitoza și, uneori, litiaza urinară.

Scanned with OKEN Scanner

La copii sau în cazuri de fracturi ale adulților, apar tulburări în calcifiere.

Concomitent sau la interval scurt apar :

b) SEMNELE CLINICE PARTICULARE care sînt caracterizate prin: 1. *semnele cutanate*, care se manifestă printr-o uscare și descuamare a pielii, mai ales la sfîrșitul iernii. Multitudinea lor depinde de gradul de insuficiență vitaminică și fiecare papulă corespunde unui folicul pilo-sebaceu. Extirparea papulei lasă să se vadă un mic orificiu rotund, care conține un fir de păr uscat și friabil (fig. 9).

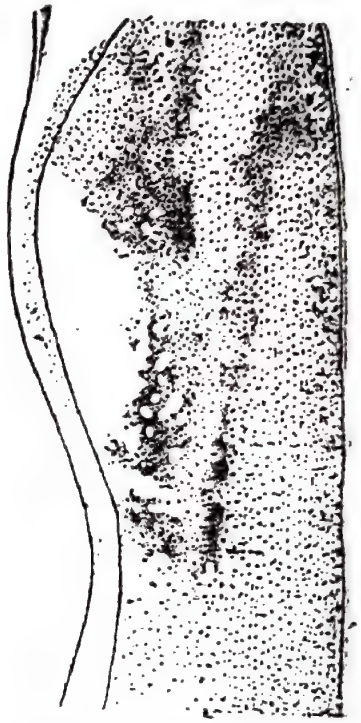


Fig. 9 — Avitaminoza A_1. Papule foliculare hiperpigmentare.

La palparea pielii apare senzația unei răzători, iar aspectul este asemănător cu pielea de broască rîioasă sau frinodermie; papulele sînt pigmentate și uneori pruriginoase.

Analiza acestor formațiuni a arătat că orificiul folicular, care este obstruat de către celulele keratinizate, antrenează atrofia glandelor sebacee iar epiderma din jur prezintă o îngroșare a stratului cornos cu o accentuare pigmentară și cu infiltrații limfocitare ; datorită faptului că procesul keratozic blochează glandele sudoripare, acestea nu mai funcționează. Poate apare o hiperkeratoză foliculară pe tot corpul, în afară de cap.

Un aspect asemănător al pielii se observă și în avitaminoza C, dar simpla frecare a papulei descoperă un folicul roz, care este diferit de micul crater folicular, observat în cazul pielii de broască rîioasă care apare în avitaminoza A.

La adolescent sau la tînăr, hiperkeratoza foliculară apare pe față, torace, ceafă (fig. 9), pe fețele antero-laterale ale coapselor sau spate. Unghiile prezintă striuri transversale.

2. *Semnele oculare* se manifestă prin (26) hemeralopie, xeroftalmie, keratomalacie, pata Bitot, pigmentație sclerotică, opacități conjunctivale.

NICTALOPIA se manifestă printr-o slabă adaptare (de la lumină la întuneric), iar HEMERALOPIA, prin diminuarea acuității vizuale la lumina slabă a crepusculului (la căderea nopții) ; bolnavul nu distinge contururile obiectelor, nu se poate orienta în întuneric. Vederea este foarte scăzută („scotoptică").

Fenomenele sînt înlăturate în prima zi după tratamentul cu vitamina A.

XEROFTALMIA se caracterizează printr-o hiperkeratoză a conjunctivei, prin atrofia citoplasmei celulare bazale, respectînd însă

Scanned with OKEN Scanner

nucleul, cu proliferarea unui epiteliu keratinizat. Ochiul își pierde luciul, dacă este menținut deschis timp de 2 minute, conjunctiva este uscată, încreștită, dînd bolnavului senzația de corp străin în ochi. Secreția lacrimală scade, corneea nemaifiind protejată de efectul protector și nutritiv al lacrimilor, în special în dreptul fantei palpebrale.

Imunoglobulinele IgA și IgG dispar din lacrimi, ca și lactotransferina și lizozimul, ceea ce determină scăderea rezistenței la infecții (22). Pe acest fond apare infecția secundară, care se caracterizează printr-o inflamație cu secreție vîscoasă și lăcrimare accentuată. Apare ulcerarea cu perforarea corneană în 2—3 zile pe un ochi relativ alb (ulcerul cornean aton). Camera anterioară este absentă.

Fenomenele accentuate de xeroftalmie survin mai des la sugari și copilul mic, iar deficiența este mai frecventă la băieți decît la fete ; statisticile menționează că la copiii între 1—5 ani ponderea o deține sexul masculin (60%), iar după vîrsta de 10 ani proporția bolnavilor de sex masculin ajunge la 80%. La copiii cu xeroftalmie s-a observat și infiltrarea grasă a ficatului.

La bolnavii cu xeroftalmie sînt frecvente și alte afecțiuni : bronhopneumonie, diaree și litiază urinară. Diareea se poate datora și unei infecții, cu toate că la baza ei se află modificările epiteliale produse prin carență de vitamina A.

Într-o avitaminoză A severă, apare „keratomalacia", la care sînt predispuși sugarul și copilul.

Maladia se caracterizează printr-o keratinizare a epiteliului cornean ; pata opacă se întinde pe cornee, ducînd rapid la pierderea vederii. Datorită infecției secundare, capacitatea de apărare reprezentată prin lacrimi se micșorează rapid și este o urgență medicală. Tratamentul cu vitamină A în stadiul patologic incipient duce totuși la cicatrizarea leziunilor oculare, fără a surveni orbirea.

Prosperi L. și Ghinelle F. (66) citează apariția keratomalaciei în coma hepatică cu perforarea corneei la ambii ochi, în a 15-a zi de boală, și o atribuie hipoproteinemiei cu perturbarea transportului de vitamină A spre țesuturile „țintă" la nivel sanguin, vitamina A fiind legată de o α_1-globulină numită „retinol binding protein" (RBP).

Diminuarea sau absența suportului proteic de transport al vitaminei A se întîlnește mai ales în cazurile de malnutriții proteinice grave.

Examenul anatomopatologic al conjunctivei în keratomalacie arată leziuni distrofice. Epiteliul de suprafață se află în acantoză cu tendință la parakeratoză, atrofia glandelor conjunctivale, stază și edem la nivelul stromei (67).

În cazul unei subcarențe prelungite de intensitate mijlocie de vitamină A, apare la un ochi sau la ambii formațiunile „Bitot" sau „pata Bitot," care are aspectul de pată sidefie sau argintie, cu diametrul

orizontal de 8 mm, iar cel vertical de 5 mm ; aceasta este formată din grupe de puncte alb-strălucitoare, localizate în regiunea ecuatorială a globului ocular, pe conjunctiva bulbo-temporală, avînd baza tangentă la 1—2 mm de marginea corneei și vîrful la unghiul extern al ochiului. Ochiul nu prezintă ulcerații și tratamentul cu vitamină A, în asemenea cazuri, trebuie efectuat mult timp întrucît revenirea este foarte lentă (fig. 10).

Fig. 10 — Pata Bitot.

3. *Tulburări osoase.* Vitamina A este indispensabilă pentru dezvoltarea normală a țesutului osos, exercitînd o acțiune specifică asupra osteoblaștilor și osteoclaștilor din oasele în dezvoltare.

Carența acestei vitamine duce la deformări osoase cu efecte grave asupra structurilor nervoase învecinate, întrucît se produc compresiuni nervoase și pensări la trecerea nervilor prin orificiile osoase.

Lipsa vitaminei A afectează creșterea ponderală și staturală, dezvoltarea dinților, apar atrofii ale emailului dentar și modificări în depozitarea dentinei.

La organismele tinere, în stare de carență vitaminică A, s-a observat o oprire a diviziunii celulare din cartilajele de conjugare și o atrofie a celulelor formate. Aceasta are ca urmare îngroșarea oaselor compacte, care produce compresiuni pe creier sau măduva spinării (—).

4. *Semne litiazice.* Unii autori (43) au presupus că litiaza urinară la copii ar putea avea drept cauză hipovitaminoza A, avînd în vedere că leziunile epiteliale urinare ușurează constituirea depozitelor de urați, iar calculoza vezicală este relativ frecventă în regiunile în care se observă cazuri numeroase de xeroftalmie : în anumite țări din Africa, America Centrală, America de Sud dar, mai ales, în Asia de Sud-Est.

Manifestările frecvente care apar în carența vitaminei A sînt rezumate în tabelul 17, în raport cu starea fiziologică și vîrstă.

1.16. Metodele de separare, identificare și dozare

După ce carotenoizii au fost extrași din produsele vegetale sau animale (sînge, țesuturi etc.) cu diferiți solvenți (acetonă, metanol, etanol, apă, eter etilic, eter de petrol, etanol absolut etc.) sînt izolați, identificați și dozați.

Tabelul 17

Manifestările din hipovitaminoza A (57)

Vîrsta	Cauza carenței	Manifestări
Sarcină	Absența de caroten în alimentație. Necesar crescut prin sarcini repetate	Nivel plasmatic scăzut de vit. A. Depozit hepatic scăzut. Xeroftalmie rară. Pete Bitot ocazional.
Făt	—	Depozit hepatic redus. Xeroftalmie (rar). Malformații congenitale.
Primul an de viață	Conținut redus de vit. A în sîngele matern. Alimentație artificială. Infecții.	Scăderea vit. A în plasmă. Catabolizarea depozitului hepatic. Xeroftalmie frecventă. Petele Bitot rare. Deficiență ponderală și staturală, papule foliculare.
1—5 ani	Alăptare îndelungată. Carență alimentară. Infecții.	Apariția frecventă a xeroftalmiei. Pete Bitot (uneori). Papule foliculare.
Vîrstă școlară	Carență alimentară în caroten, vit. A, grăsimi, proteine.	Pete Bitot. Orbire nocturnă. Hiperkeratoză foliculară ocazional.
Adulți	Carență alimentară. Infecții, ciroză hepatică. Boli pancreatice.	Predomină orbirea nocturnă. Pete Bitot ocazional. Xeroftalmie (rar).
		Hiperkeratoză foliculară ocazional. Keratomalacie, litiază urinară.

Separarea se face prin metode cromatografice (pe coloană, pe strat subțire, pe hîrtie, în faza lichidă de presiune înaltă).

Identificarea carotenoizilor se efectuează prin : 1. determinarea spectrului de adsorbție în vizibil în diferiți solvenți, în concentrații și amestecuri diferite ; 2. prin repartiția între eter de petrol sau hexan și alcool metilic în diferite concentrații ; 3. prin teste chimice (11), de exemplu : a. se diferențiază β—carotenii de retinol după culoarea apărută la tratare cu $HClO_4$ și H_2SO_4 concentrat ; b. pentru identificarea retinolului și a

Compus	Culoarea apărută	
β—caroten	$HCLO_4$—70 % albastru	H_2SO_4—98 % albastru
retinol	violet	albastru—violet

derivaților săi se folosesc acizii trifloracetic, tricloracetic, în soluție de diclormetan, triclorura de stibiu, care dau produși colorați stabili (tabelul 18).

Tabelul 18

Identificarea retinolului și derivaților pe cromatoplăci (57)

Reactiv	Retinol	Retinal	Retinil-ester	Retinal-oximă
$SbCl_3$	Albastru	Albastru-verde	Albastru	Brun
CF_3-COOH	Verde-albastru	Galben	Verde-albastru	Portocaliu
CCl_3-COOH	Albastru-verde	Brun	Albastru-verde	Roșu

1.16.1. Metode spectroscopice

Identificarea se face cu ajutorul: a. spectroscopiei în vizibil, întrucît există o strînsă relație între structura electronică a carotenoidelor și absorbție. Poziția maximilor de absorbție este în funcție de numărul de duble legături din moleculă și solventul utilizat;

b. spectroscopiei în infraroșu (i.r.), care oferă un material informativ mai bogat, stabilindu-se atît natura sistemului polienic cît și prezența și poziția diferitelor grupări funcționale în molecula carotenoidelor;

c. spectroscopiei r.m.n., care aduce indicații decisive în elucidarea structurii carotenoidelor, punînd în evidență prezența protonilor prin semnalele care apar în spectru și a căror mărime diferă în funcție de structura carotenoidei, de aranjarea atomilor învecinați și de natura și numărul protonilor ce se află într-o anumită grupare;

d. spectroscopiei de masă, care poate preciza tipul de carotenoid, ceea ce este foarte important în confirmarea structurii lor.

Utilizarea combinată a acestor metode stabilește structura oricărui carotenoid.

1.16.2. Metode fizico-chimice

1.16.2.1. *Metoda generală de dozare a provitaminelor și vitaminelor A este cea spectrofotometrică* (65, 68).

Cantitatea de carotenoide se calculează ținînd seama de volumul soluției (V. Cml), de extincția citită la lungimea de undă de 450 nm pentru provitamine și la 328 nm pentru retinol și G (cantitatea de substanță luată în lucru, în g sau ml).

$$(1)\qquad mg = \frac{xV \times 10^3}{E^{1\%}_{1cm} \times 100 \times G} \qquad (2)\quad \mu g = \frac{xV \times 10^6}{E^{1\%}_{1cm} \times 100 \times G}$$

Cînd soluțiile nu se pot spectrofotometra, din cauză că soluția este prea concentrată, se diluează la o diluție adecvată, iar valoarea diluției se introduce la numărătorul relației prin amplificare.

1.16.2.2. *Dozarea vitaminelor A și a provitaminelor* se face și prin alte metode (69, 70); amintim metoda Carr și Price (69), care se bazează pe măsurarea intensității culorii albastre, ce se formează prin tratarea unei soluții cloroformice cu retinol, cu clorură de antimoniu III; intensitatea colorației se evaluează fotocolorimetric la $\lambda = 620$ nm. Culoarea albastră formată de vitamina A se menține doar 2 minute, pe cînd culoarea albastră dată de carotenoizi cu același reactiv este persistentă; folosindu-se λ de mai sus se urmărește maximum de absorbție, care indică numai vitamina A.

1.16.3. Dozarea carotenilor și a vitaminei A din sînge

A. Se iau 10 ml sînge, se introduc într-un mojar, peste care se adaugă Na_2SO_4 anhidru și se omogenizează pînă se obține o pudră uscată (70). Se toarnă 20 ml alcool absolut mojarîndu-se, apoi se adaugă 40 ml amestec (1 : 1) eter de petrol și eter etilic agitîndu-se, se decantează soluția cu extract pigmentar și se spală de 2 ori cu cîte 40 ml amestec de solvent, decantînd de fiecare dată, se evaporă la sec, iar reziduul se reia într-un volum mic de eter de petrol. Se spectrofotometrează la 450 nm.

B. Dozarea carotenilor în serul sanguin are ca principiu tratarea sîngelui cu alcool, pentru ca aceștia să fie eluați de proteine. Carotenii astfel eluați sînt solviți în eter de petrol care, după evaporare, lasă un reziduu colorat în galben, ce conține caroten. Determinarea are loc la lumină difuză.

Valorile normale = 118—120 μg/100 ml ser.

La 0,6 μg caroten pur corespunde 0,344 μg acetat de retinol, care reprezintă unitatea internațională (UI). Unitatea CLO (Cod Liver Oil = untură de pește) corespunde la 125 μg — caroten.

1.16.4. Dozarea vitaminei A din țesut hepatic

Se cîntărește 1 g țesut hepatic și se mojarează cu circa 5 g nisip de cuarț, după care se adaugă Na_2SO_4 anhidru, mojarîndu-se pînă se obține o pudră uscată. Se adaugă 20 ml etanol absolut și apoi se extrage cu eter etilic și eter de petrol în cantitățile arătate la sînge, după care se spectrofotometrează.

1.16.5. Dozarea vitaminei A din lapte și smîntînă

Din lapte. Într-o pîlnie de separație se pun : 100 ml lapte nefiert, 100 ml etanol absolut și se agită 2—3 minute. Se adaugă solvenți în amestec (1 : 1) eter de petrol și eter etilic ; se agită și se lasă în repaus circa 15 minute; se decantează soluția pigmenților și apoi se repetă extracția de 2 ori cu 50 ml amestec de solvenți. Extractele se reunesc și se spală cu apă distilată de 8—10 ori. În soluția pigmenților se adaugă Na_2SO_4 anhidru și se usucă la sec ; reziduul se reia într-un volum cunoscut de

eter de petrol și se spectrofotometrează. Pentru calcul se utilizează formula (2).

Din smîntînă. Peste 10 ml smîntînă se adaugă 50 ml etanol absolut și apoi 100 ml amestec de solvenți, continuîndu-se ca în cazul dozării din lapte.

1.16.6. Dozarea vitaminei A din medicamente

Farmacopeea română, ediția IX (71), prevede, pentru determinarea cantitativă a vitaminei A (retinol acetat), din soluția uleioasă de vitamină A din preparatele farmaceutice, dizolvarea în alcool absolut a soluției uleioase și citirea extincției la lungimea de undă de 326 nm în cuva de 1 cm.

Conținutul în acetat de vitamină A exprimat în UI/g se calculează după formula :

$$UI/g = \frac{E \times 100 \times 1\,900}{g \times 0{,}4}$$

E = extincția citită la marginea de undă = 326 nm ;
g = cantitatea luată în lucru, în g ;
1 900 = coeficientul de transformare în UI.

1.16.7. Metode biologice

Metodele biologice (18, 72) sînt folosite pentru a se urmări activitatea vitaminică a unui medicament, aliment care conține vitamina A, precum și în scop diagnostic de carență vitaminică.

1.16.7.1. *Testarea pe animale.* Fenomenele produse de carența de vitamină A, luate drept teste, sînt :

A. Testul bazat pe încetarea creșterii și scăderii în greutate a șobolanilor ; este cel mai des folosit și acceptat universal.

B. Testul care folosește modificările keratinice ale mucoaselor șobolanului și, mai ales, apariția unui estru fals la șobolancele castrate, supuse unui regim de carență.

Autorii (66) susțin că prin această metodă erorile sînt mult mai mici decît cele obținute prin metoda scăderii în greutate.

a. Controlul creșterii se face prin compararea acțiunii profilactice a produsului necunoscut, pe loturi de șobolani tineri supuse unui regim lipsit de vitamină, cu loturi de animale alimentate normal.

Testul bazat pe scăderea în greutate constă în compararea loturilor de șobolani tineri, la care li s-a administrat un regim standard asociat cu produsul necunoscut vitaminic, cu loturile ținute la o dietă asemănătoare, la care s-au asociat anumite cantități standard de β-caroten.

Concomitent, se urmărește radiografic evoluția deformațiilor specifice ca și fosfatazemia.

Scanned with OKEN Scanner

b. Testul bazat pe modificările keratinice ale mucoaselor (66) folosește femele de șobolan de 110—130 g, care au fost castrate și supuse la un regim de carență în vitamină A. După 10—15 zile, se controlează zilnic secreția vaginală. Sînt luate în evidență numai animalele care au prezentat o stare de estru permanent timp de 10 zile. La aceste animale li se administrează vitamina A zilnic, controlîndu-se secreția vaginală pînă la apariția leucocitelor. Durata timpului de la administrarea vitaminei pînă la apariția leucocitelor este proporțională cu doza administrată :

1,0 μg caroten . . . . . după 9 zile ;
2,5 μg caroten . . . . . după 5 zile ;
5,0 μg caroten . . . . . după 3 zile.

Se administrează apoi doze din standardul de vitamină A internațional, care este β-carotenul (1 UI=0,6 μg din preparatul standard), și 2 doze din preparatul necunoscut, notîndu-se pentru fiecare grupă de animale media timpului de apariție a leucocitelor în secreția vaginală. Pentru evidențierea leucocitelor se colorează lamele, ce conțin secreția vaginală, cu albastru de metil 1% și acid acetic 3%, după care se face analiza. Se determină apoi raportul de activitate dintre cele două probe comparate.

1.16.7.2. *Testarea și investigarea la om.* Pentru a se ajunge la concluzia unei carențe vitaminice la om, se fac o serie de investigații.

A. Anamneza stabilește, aproximativ, dacă rația alimentară conține mai multe sau mai puține alimente cu activitate vitaminică față de necesarul zilnic.

Comparînd datele obținute prin ancheta alimentară cu cele existente în tabelul 9, folosind doar două adunări, se poate stabili deficitul existent al unei rații alimentare zilnice.

Unii autori (26) au stabilit procentajul activității vitaminice pe care-l aduce 100 g dintr-un anumit aliment (tabelul 9) ; de asemenea, s-a stabilit că unitatea de activitate vitaminică zilnică, necesară pentru un adult de 70 kg, care exercită o activitate fizică zilnică moderată, este egală cu 100. Adunînd activitatea vitaminică zilnică a alimentelor din rația alimentară se poate preciza dacă cifra obținută este mai mare sau mai mică decît 100. Dacă este sub 100, există carență dietetică de vitamină A.

B. Examenul clinic general scoate în evidență o serie de semne particulare : — cutanate, descrise anterior (pag. 79).

C. Examene hematologice : anemie cu leucopenie moderată și limfocitoză.

D. Examene biochimice : dozarea vitaminei A în sînge are ca principiu măsurarea fotometrică a colorației albastre dată de vitamina A în prezența reactivului Carr și Price (soluție cloroformică saturată de $SlCl_3$). Vitamina A este extrasă cu eter de petrol după

Scanned with OKEN Scanner

saponificare, pentru a se înlătura acizii graşi care interferează soluţia albastră. Se compară cu o soluţie etalon, a cărei concentraţie în vitamină A este cunoscută, sau o soluţie formată din azotat şi sulfat de cupru.

Valorile normale (26)

Adulţi — bărbaţi	130—150 UI/100 ml plasmă
— femei	100—110 UI/100 ml plasmă
Copii sub 16 ani	70—100 UI/100 ml plasmă
Nou-născuţi	50—100 UI/100 ml plasmă

La femei, în cursul graviditãţii, vitaminemia coboară în cursul ultimului trimestru, ca să revină la 48 ore după naştere, din rezervorul hepatic.

Concentraţia sanguină variază în raport de individ ; la acelaşi individ sînt variaţii zilnice, fie ca urmare a unei descărcări insuficiente a rezervorului hepatic, fie mecanismului termoreglării. De asemenea, variaţiile de temperatură ale mediului înconjurător influenţează vitaminemia.

E. Testul biologic de adaptare la întuneric. Prin acest test se încearcă să se determine o scădere în stadiul final al adaptării vederii la întuneric. În acest scop se folosesc aparate speciale (adaptometre, fotometre), ceea ce face ca probele de adaptare să fie efectuate de specialişti. Interpretarea rezultatelor se face pe baza mediei rezultatelor obţinute după un număr de examene. Aceste test nu poate fi practicat decît de specialişti.

Asociind anamneza cu examenul clinic şi testele fotometrice cu cele sanguine se pune un diagnostic sigur de hipo- sau avitaminoză.

F. Testul terapeutic. Pentru a se observa efectul pozitiv sau negativ al vitaminizării, se administrează zilnic 100 000—200 000 UI în soluţie uleioasă, pe cale bucală, timp de mai multe săptămîni ; după a 2-a sau a 3-a săptămînă, începe să se observe ameliorarea prin apariţia secreţiei sudorale, papulele sînt eliminate, pielea începe să revină la normal, cu apariţia de fire noi de păr.

G. Proba hipervitaminemiei provocate. Se recoltează sînge à jeune şi se administrează per os 200 000—500 000 UI soluţie uleioasă de vitamină A. Apoi, se recoltează sînge la 3 şi 6 ore, dozîndu-se vitamina A în cele trei probe ; se compară rezultatele.

Normal, vitaminemia este progresivă pînă la 6 ore, în raport cu doza absorbită ; la 24 ore, nivelul iniţial este uşor crescut. Astfel, după administrarea a 200 000 UI, vitaminemia creşte la 500 UI, iar după 500 000 UI nivelul este între 500 UI şi 1 000 UI/100 ml sînge, la 6 ore de la administrarea vitaminei ; curba normală prezintă o ascensiune progresivă.

Rezultatele care indică valori mai mici decît cele menţionate duc la alcătuirea unor curbe joase, numite curbe descoperite (decapitate),

Scanned with OKEN Scanner

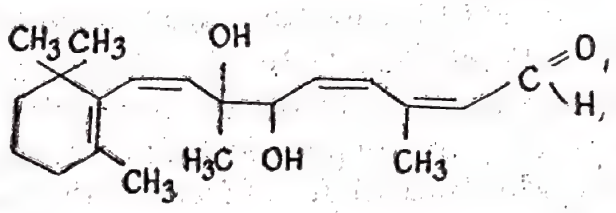
care indică existența unei dificultăți ce micșorează ritmul de absorbție intestinal.

În anumite dereglări endocrine sau în nefroza lipoidică se pot obține curbe foarte înalte. Se poate întîlni și situația în care vitaminemia să fie scăzută și cu o curbă a hipervitaminemiei provocate, normală; aceasta indică o insuficiență vitaminică alimentară sau o folosire excesivă a vitaminei A de țesuturile organismului (26).

În absorbția vitaminei A intervin o serie de factori: enzimatici, regimul alimentar, motilitatea intestinală și agenții emulsionanți, care grăbesc și ușurează absorbția: bila, lecitina, forma uleioasă a vitaminei A.

1.17. Antivitamine

J. Meunier și col. au obținut un derivat hidroxilat în catena laterală, care are un caracter antivitaminic prin acțiunea toxică pe care o posedă.



De asemenea, s-a observat că administrarea de citral la animale a provocat keratomalacie, însoțită de degenerescența conurilor și bastonașelor retiniene (66); acestea au putut fi înlăturate prin administrarea de vitamină A. Autorii consideră citralul ca antivitamină A.

1.18. Preparatele farmaceutice cu indicații terapeutice la om

Vitamina A intră în compoziția produselor: **Vitamina A** drag.' (10 000 UI), soluție uleioasă injectabilă a 1 ml (300 000 UI), soluție uleioasă buvabilă a 1 ml (30 000 UI); **Cavit** tablete, **Polivitaminizant S**, **Viplex** drag., **Vitamina A+D₂** drag., capsule, soluții uleioase injectabile și buvabile, **Vitamina A** palmitat hidrosolubilă etc.

Sinonime: Arovit (Roche), Vogan (Bayer), Davitamon A (Organon-Olanda), Vitadol (RDG), Axeroftal (RSC), Axerol (firma Wander) ș.a.

Vitamina A este indicată atît în medicina umană, cît și cea veterinară, atunci cînd apar fenomenele pe care le produce carența ei. Se utilizează preventiv și curativ, în afară de afecțiunile oculare (xeroftalmie, hemeralopie, ulcus corneean, keratită, keratomalacie), și asociată cu medicația antimicrobiană în afecțiunile căilor respiratorii, gastrointestinale, renale și endocrine. De asemenea, este utilă în afecțiuni din sfera ORL (rinofaringite cronice, rinite atrofice, epitelită postra-

dioterapie etc.), în rahitism și în regimurile carențate în lipide, în sindromul premenstrual, prin insuficiență luteinică. Se recomandă asocierea vitaminei cu alte medicamente, în mod preventiv, pentru mărirea rezistenței la infecții și stimularea creșterii la copii, precum și în unele boli dermatologice (acnee vulgară, ihtioză, diskeratoze foliculare, arsuri, ulcere cronice ale gambei etc.).

Vitamina A se administrează în raport de carența pacienților, astfel că la adulți se pot injecta i. m. 1 fiolă la 2—3 zile sau chiar 1—2/zi, în cazuri mai severe. De asemenea, se recomandă administrarea per os 1—10 drag./zi sau 10—100 picături/zi din soluția uleioasă.

Durata tratamentului variază între 30—45 zile la adult, la sugar 10—15 zile, perioadă în care li se administrează 2—3 pic./zi per os soluție uleioasă, ceea ce reprezintă 2 000—10 000 UI/zi. La copii, în funcție de vîrstă și de carența în vitamina A, se administrează per os 2 000—20 000/UI/zi ; se poate administra și injectabil, dar numai la copii mai mari de 3 ani, cîte 100 000—300 000 UI, la interval de 2—3 săptămîni.

În sindromul premenstrual se recomandă 150 000 UI/zi, timp de 10 zile înaintea menstruației. În psoriazis, se administrează vitamina A în doze mari, 200 000—300 000 UI/zi, timp de 8—12 săptămîni.

Cercetările au arătat că VITAMINA A palmitat este foarte utilă în timpul sarcinii și a perioadei de lactație, ca și în arterioscleroză și în afecțiuni hepatice ; este indispensabilă pentru funcția retinei. În funcție de gravitatea cazului, se pot administra zilnic, prin injecții strict i. m. la adult, 1/2—1 fiolă, ceea ce reprezintă 20 000 sau 40 000 UI retinol palmitat soluție buvabilă (20 000 UI/ml=40 picături), 20—30 pic./zi sau una capsulă gelatinoasă/zi (50 000 UI).

ATENȚIE ! Nu se administrează doze mari de vitamina A în stările hipertensive și la bolnavii cu glaucom.

Nu se va depăși doza de 50 000 UI/zi la gravide în primul trimestru de sarcină ; la acestea se recomandă multă prudență în prescrierea tratamentului și a dozelor de vitamină A.

La bolnavii cu obstrucție biliară și cu insuficiență a pancreasului exocrin (acolie) se va administra ca vitamină A per os numai vitamina A palmitat, întrucît celelalte forme medicamentoase nu sînt absorbite din intestin în lipsa emulgatorului biliar.

Vitamina A+D_2 are ca sinonime următoarele medicamente : A+D Vicatrat, Viton (R.F.G.), Polivit. A+D (R.F. Jugoslavia), Vitol (Finlanda), Vitadone fi. buvabile de 2 ml ce conțin 70 000 UI vit. A și 80 000 UI vit. D_2 (Franța).

Vitamina A protejează acțiunea vitaminei D_2, medicament ce intervine în conservarea celulelor epiteliale.

Vitamina A+D_2 are rol în absorbția intestinală a calciului și în mineralizarea organismului. Este indicată în prevenirea și tratamentul rahitismului, în osteoporoză, osteomalacie, tulburări de dentiție, spasmofilie, eczeme, boli infecțioase, diateza exsudativă, în tuberculoza ganglionară, în perioada de consolidare a fracturilor, precum și în perioada de alăptare.

Medicamentul se găsește sub formă de fiole a 3 ml (350 000 UI retinol+30 000 UI vit. D_2), drageuri (retinol 3 000 UI + vit. D_2 1 000 UI) și soluție uleioasă (retinol 30 000 UI+D_2 15 000 UI/ml), în care vitamina A se află în diferite proporții cu vitamina D_3.

La adult se administrează 3—8 drag./zi sau 1 fiolă buvabilă la interval de 10 zile ; de asemenea, se indică ca din soluția uleioasă să se dea adultului 20—30 pic./zi, la sugari 5—10 pic./zi, iar la copii peste 2 ani 10—15 pic./zi sau 1 fiolă soluție buvabilă la 1—2 luni.

ATENȚIE ! Se recomandă ca bolnavilor imobilizați să li se administreze doze mici de vit. A+D_2 și este CONTRAINDICAT la bolnavii cu : hipercalcemie, hipercalciurie, litiază calcică, hipersensibilitate la vitamina D, hipervitaminoză A și D.

Vitamina A este asociată în diverse proporții cu vitamina E în medicamentele franceze : Arovit, Rovigon.

Medicamentul românesc **Polivitaminizant S** conține în drageuri pe lîngă α-tocoferol acetat 30 mg și retinol 1,55 mg (circa 500 UI) și tiamină, riboflavină ana 1,5 mg piridoxină, cianocobalamină ana 5 mg, acid ascorbic 60 mg, Vit. D_2 1 600 UI, nicotinamidă 18 mg. Se recomandă în hipovitaminoza din perioada de creștere, în sarcină în perioada alăptării, în boli infecțioase, convalescență, postoperator, la bătrîni, malnutriție, dezechilibre alimentare ca și în perioada activității sportive.

Medicamentul **Viplex** conține vitamina A în asociere cu vitaminele D_2, B_1, B_2, B_6, PP, C, E, și P precum și lecitină, fier sulfat în diferite proporții.

Preparatul are aceleași indicații terapeutice ca și **Polivitaminizant S.**

În tratamentul general, pe lîngă administrarea vitaminei A se recomandă să se corijeze deficitul proteino-lipidic. Dieta bolnavilor va conține carne, lapte integral, unt, ouă, smîntînă. Se vor administra, concomitent cu vitamina A, și hidrolizate de proteine.

În dermatologie

În protoporfiria eritropoetică (PPE) a copiilor și adulților este folosit β-carotenul, cu rezultate pozitive, bolnavii după tratament putînd sta la soare (10), dacă au primit 80 mg/zi β-carotenoizi.

Scanned with OKEN Scanner

Prezintă acțiune fotoprotectoare, mai ales fitoenul și, în mai mică măsură, β-carotenul (73).

În leucoplaziile întinse difuze, în special ale cavității bucale, ca medicație protectoare și epitelizantă a mucoaselor se indică vitamina A (buvabilă, 1 flacon/săptămînă sau 1 fiolă a 300 000 UI soluție uleioasă tot per os) sau palmitat de vitamină A, la 2 zile i.m., timp de 1 lună.

Unguent cu acetat de vitamină A (0,1—0,3%) și loțiunea (0,1%) se folosește în : ichtioză, diskeratoză foliculară Davier, eczemă keratozică, acneea polimorfă, 5 0000 UI de 3 ori/zi, timp de 3 luni.

Tretinoinul (acidul retinoic) înglobat în soluții, gel, cremă are acțiune topică în dermatoze, datorită tulburărilor de keratinizare (96).

În acneea vulgaris, acidul retinoic 0,1—0,3% în soluție de alcool etilic a dat vindecări fără cicatrici, în proporție de 80%, după aplicații locale timp de 3 luni.

Izomerii sintetici : **Etretinat** (Tigason), **Izotretinoinul** (Roaccutan sau Accutan) și **Arotinoidul** (Ro-13-6298) se utilizează în dermatozele congenitale cu tulburări de keratinizare, în formele grave de psoriazis eritrodermic ca și în cel artropatic, în doze de 75—100 mg, în 2 prize zilnic, și 50 mg/zi în doze de întreținere. Izotretinoinul se mai folosește în acneea chistică și cea conglobată.

R. Ehbert, H. Gollnick și C. E. Orlanos (1987) (74) au administrat **Etretinat** în doze descrescînde (75 mg, 50 mg, 35 mg) la 70 bolnavi cu psoriazis sau lichen plan, timp de 12 săptămîni, observînd că de timpuriu apar fenomene secundare : cheilită, subțierea pielii, căderea părului, descuamări palmo-plantare, creșterea colesterolului și a trigliceridelor în ser, prurit, uscarea mucoaselor bucale și nazale ; cînd au administrat doze crescînde (35 mg, 50 mg, 75 mg), fenomenele secundare au fost diminuate și eficacitatea a fost cea mai bună, cu excepția pitiriazisului pustular.

Tratamentul de întreținere recomandat timp îndelungat trebuie stabilit între 0,2—0,5 mg/Kgc/zi, întrucît există fenomenul acumulării, care este un factor important de timp în apariția și intensitatea fenomenelor secundare (74).

S. Antonescu și I. Nedelcu (1987) susțin că tratamentul cu **Etretinat** în doză zilnică de 1 mg /Kgc a determinat dispariția ihtiozei (75).

Aceste preparate au și acțiune de prevenire a transformării epiteliomatoase într-o serie de precanceroze cutaneo-mucoase cu risc major. Acțiunea farmacologică se rezumă la : 1. reducerea volumului glandelor sebacee și a fluxului secreției sebacee ; 2. reducerea keratinizării la nivelul canalului sebaceu ; 3. inhibarea reacției inflamatorii ; 4. reducerea populației bacteriene la nivelul foliculului (75, 97).

Scanned with OKEN Scanner

Izotretinoinul (13-cis-retinoic) (76) are acțiune asupra epidermului, determinînd dezancorarea keratinocitelor și descuamarea stratului cornos patologic, ajutînd și la îndepărtarea factorilor leucotactici. Concomitent, are acțiune asupra polimorfonuclearelor, prin reducerea sintezei factorilor leucotactici, creșterea adeziunii celulare, ceea ce determină reducerea motilității acestor celule importante în inflamații și diminuarea epidermotropismului.

Aceste mecanisme duc la amendarea fenomenelor clinice din acneea nodulochistică și conglobată, inclusiv acneea vulgaris (77).

Dozele optime de administrare în psoriazis (78) sînt : 0,5 mg/Kgc/zi doză inițială și 1 mg /Kgc/zi doză de întreținere, pe o durată de 10—20 săptămîni.

Efectele secundare sînt, de obicei, foarte rare și asemănătoare cu cele ale hipervitaminozei cronice, cheilită, uscarea mucoaselor, dermatoze faciale, descuamare plantară precum și opacitate corneeană, creșterea trigliceridelor plasmatice, formarea de țesut de granulație exuberant cu risc teratogen (78) ; nu are potențial mutagen, nu influențează spermatogeneza și nu se acumulează în organism (77) (ca talidomida).

Experimental (J. Van Wauwe, 1978), s-a administrat la femelele ovarectemizate de șobolan, cu hiperkeratoză vaginală, acidul al-trans-retinoic sau 13-cis-retinoic (3 × 10 mg/Kgc), timp de 1, 2, 3 zile, obținîndu-se o inhibare totală a hiperkeratozei (79).

Preparatul **Vergeturin** (conține vitamina A, caroten, lecitină etc.), sub formă de cremă coloidală, folosit preventiv și curativ în vergeturi; numai curativ, în arsuri superficiale, eriteme fesiere, dermatoze scuamoase, escare, cicatrici, zone pruriginoase.

Uleiul de cătină conține carotinoizi și este utilizat în ulcere varicoase de gambă, escare grave, eczeme, dermite, plăgi atone.

În oftalmologie

În afară de preparatele vitaminice amintite se utilizează și medicamentul **Heligal** (conține helenină — esterul dipalmitic al luteinei). Indicat în miopie, hemeralopie, ca adjuvant (un carotenoid din Hippophae rhamnoides) în terapia retinitei pigmentare : la normali, îmbunătățește sensibilitatea luminoasă scăzută (oboseală). Doza zilnică : 5—10 mg/zi, timp de 10 zile.

În ulcerele corneene, în cheratitele flictenulare și cheratitele hepatice se folosește **Oleum hippophae** (cătină) ; conține carotenoizi (96).

În alergii

Experimentele, efectuate pe cobai alergizați prin inhalare de aerosoli cu histamină sau acetilcolină, au demonstrat că vitamina A înlătură bronhospasmul, fapt ce a determinat utilizarea vitaminei A, concomitent cu calciferolul, în unele stări alergice la om.

Scanned with OKEN Scanner

In ciroză și alte maladii

Unii autori (80) au propus tratamentul cu vitamina A asociată cu săruri de zinc în cazurile de *ciroză biliară primară. În mucopolizaharidoza de tip I* (maladia Hurler), boala se datorează unui deficit în enzimă hidrolitică, al cărui efect este depozitarea în țesuturi a unui mucopolizaharid asemănător acidului condroitin-sulfuric și a unui glicolipid. A fost pusă în evidență la bolnavii care prezintă un sindrom distrofic particular, cu întîrziere naturală și mintală ; se manifestă prin : hepatomegalie, osteoporoză, opacifierea corneei, surditate, endocardită cronică.

Vitamina A, administrată în doze divizate de 10 000—100 000 U (3—30 mg), a crescut excreția urinară a mucopolizaharidelor la 16 copii cu maladia Hurler. După mai puțin de o lună de tratament, cantitatea de mucopolizaharide din urină scade. Au mai beneficiat de tratament cu vit. A alți 2 copii (de 3 și 5 ani) cu maladia Hurler, la care s-au administrat 50 000—65 000 U (15—19,5 mg/zi), timp de 4 luni (78).

În vaginite atrofice

Administrarea de vit. A în doze zilnice de 50 000 (15 mg) a stimulat țesutul epitelial vaginal la femeile cu vaginită atrofică postmenopauză (81).

În 1989, Organizația Mondială a Sănătății (O.M.S.), pe baza unor cercetări (82, 83, 84, 85, 86), a editat un ghid (87) în care indică unele scheme terapeutice utile în prevenirea și tratamentul tuturor fazelor de *xeroftalmie activă*, care cuprind : hemeralopia, xerosisul conjunctival, pata Bitot, xerosisul corneean și keratomalacia. Se rezumă la :

I. *Tratamentul xeroftalmiei*

a. La copii în vîrstă de 1—6 ani cu xeroftalmie se recomandă a se administra pe cale bucală în prima și a doua zi cîte 200 000 UI vitamina A, iar după patru săpămîni încă 200 000 UI (200 000 UI=60 mg retinol = 110 mg palmitat de retinol = 69 mg acetat de retinol).

Dacă există cazuri cu vomismente persistente sau diaree, se poate substitui prima doză cu o injecție i.m. de 100 000 UI vitamină A miscibilă cu apă.

b. În xeroftalmia copiilor cu vîrsta sub un an, ca și la cei în greutate sub 18 kg, indiferent de vîrstă, se indică să li se administreze cîte 100 000 UI vitamină A, în soluție uleioasă, în aceleași condiții și perioadă de timp, ca la vîrsta de 1—6 ani.

La copii, leziunea corneeană în xeroftalmie este o urgență medicală, iar administrarea vitaminei A trebuie să se facă imediat.

De asemenea, O.M.S. și o serie de autori (83, 84, 85) recomandă ca să se trateze concomitent și infecția oculară secundară bacteriană sau virală (rujeolă), care complică leziunile inițiale corneene, prin aplicarea

Scanned with OKEN Scanner

unui unguent oftalmic cu tetraciclină sau cloramfenicol, sau un bandaj ocular lejer, care să protejeze ochiul.

ATENȚIE ! În aceste situații, niciodată nu se va aplica unguent oftalmic care conține steroizi.

c. În xeroftalmia copiilor în vîrstă de peste 6 ani, ca și la adolescenți și adulți (cu excepția femeilor în vîrsta procreerii, gravide), OMS indică un tratament cu aceleași doze și condiții, ca pentru copii de 1—6 ani.

d. La femeile în vîrsta procreerii, fie că sînt gravide sau nu, care prezintă hemeralopie sau pata Bitot, se recomandă o doză zilnică de 10 000 UI Vitamina A (5,5 mg palmitat de retinol) pe cale bucală, timp de 2 săptămîni (86),

Cînd leziunile corneene active ale xeroftalmiei apar la o femeie gravidă se indică să se administreze doze mărite, asemănătoare copiilor de vîrstă 1—6 ani (200 000 UI).

II. *Tratamentul preventiv al hipovitaminozei A*

Preventiv, la copii de vîrstă preșcolară, în funcție de maladiile pe care le au : malnutriție proteino-energetică gravă, diaree acută și prelungită sau infecție acută a căilor respiratorii inferioare (88), care sînt expuși la o carență de vitamină A, xeroftalmie și cecitate de etiologie nutrițională, se recomandă a li se administra (87, 89) :

a. la copii de la 1—6 ani, pe cale orală, 200 000 UI vitamina A pentru fiecare episod al maladiei în momentul depistării acesteia ;

b. la sugarii pînă la 1 an, ca și la copiii care au greutate sub 8 kg, indiferent de vîrstă, cîte 100 000 UI Vitamina A pe cale orală, pentru fiecare episod al maladiei.

„Organizația Mondială a Sănătății" menționează că această doză nu trebuie să fie administrată la copiii care deja au primit în decursul lunilor precedente un supliment de vitamină A în dozele indicate.

De asemenea, se remarcă (87, 90) că în regiunile unde rujeola este o maladie gravă, cu un coeficient ridicat de mortalitate și cu un înalt risc de cecitate, ca în Africa, trebuie să se aplice preventiv un tratament complet, precum cel indicat în xeroftalmie.

1.19. Vitaminoterapie veterinară

Pentru prevenirea diareelor și bronhopneumoniilor viteilor nounăscuți, ca și în ultimele 2—3 luni ale gestației, se administrează parenteral 600 000—1 200 000 UI vitamină A (28).

În hipovitaminoze per os UI/zi

Animale mari	Animale mijlocii	Cîini	Porci
2000—5000	600—1000	500—1000	300—500

Scanned with OKEN Scanner

După doze mari și repetate, apare hipervitaminoza cu simptomele : diateze hemoragice, leziuni cutanate, hiperostoze, boli oftalmice la animale mari, iar la tineretul animal simptomele sînt ca și la copiii cu hipervitaminoză (28).

1.20. Carotenoidele, vitamina A și malignitatea

Plamenac P. și col. (73) susțin că „chimioprevenirea cu retinoidele este extrem de eficientă în perioada de preneoplazie a celulelor".

Experimental s-a demonstrat că in vitro, în absența retinoidelor nu se produce o creștere și o diferențiere normală a celulelor din țesuturile epiteliale, iar în țesuturile traheale și bronhice apar leziuni premaligne. Adăugarea de retinoide în aceste culturi malignizate a determinat inversarea procesului de cheratinizare și refacerea celulelor ciliate ale mucoaselor.

Același efect terapeutic s-a observat și asupra leziunilor maligne ale celulelor prostatice.

O serie de autori (91) relatează că „se pot trata cu eficiență sporită în faza preneoplazică acele tipuri de cancer care au o perioadă latentă lungă, 20—25 ani".

De asemenea, o cercetare epidemiologică efectuată pe 8 000 de persoane din Norvegia a arătat că scăderea vitaminei A din hrană poate fi corelată cu creșterea cancerului pulmonar, în special la oamenii fumători (93).

Chu și Malmgren (93) relatează că experimental au obținut, cu ajutorul retinoidelor naturale, inversarea procesului de malignizare în stomac, vagin și uter.

Nettesheim P. (91) și Rogers A. (92) au constatat experimental că reducerea din hrana animalelor a vitaminei A și a retinoidelor grăbește apariția cancerului în aparatul respirator, în vezică și în colon. Întrucît retinoidele (acetatul de retinil, palmitatul de retinil, acidul trans-retinoic etc.) naturale, cînd sînt folosite în cantități mari sînt toxice, s-au făcut cercetări cu retinoide sintetice (acidul 13-cis-retinoic, esterul etilic al acidului retinoic, acetilamina retinoică, retinil-N-acetilamina etc.), stabilindu-se că acestea sînt mai puțin toxice și au o activitate biologică mai mare.

Mathews-Roth M. M. (73) susține că pigmenții carotenoidici au activitate antitumorală în tumorile induse de lumina ultravioletă. Se dau o serie de explicații asupra modului de acțiune al retinoidelor asupra carcinogenezei astfel :

a. Chytil F. consideră că retinoidele acționează analog hormonilor steroizi; ele se atașează în prima fază proteinei citosolice. Transportarea de acid retinoic (PCTAR) cu proteina formează un complex ce este translocat în nucleu, unde influențează sinteza de mARN și proteine ;

Scanned with OKEN Scanner

aceste proteine au capacitatea de a suprima expresia fenotipului neoplazic local, menținînd celula într-o formă diferențiată. Dovada acestui mod de acțiune este prezența proteinei citosolice, transportoare de vitamină A (PCTR) în citoplasma țesuturilor neoplazice și absența ei din țesuturile refractare la retinoide (73).

b. Lotal R. (93) susține că retinoizii acționează prin stimularea sintezei glicoproteinelor și, în acest fel, mențin procesul biosintezei într-o formă diferențiată. Vitaminele A intervin, în procesul biochimic din membrană, în transferul glucozidelor la gluconoconjugați.

c. Bontwell R. (63) consideră că retinoidele blochează carcinogeneza prin interferarea lor cu enzima ornitin-decarboxilaza. Enzima intervine în transformarea ornitinei în putresceină, care este etapa de limitare a formării poliaminelor, substanțe ce sînt implicate atît în proliferarea și diferențierea celulară, cît și în inhibarea carcinogenezei epiteliale experimentale.

Rodica Rișcă și col. (1983) arată că un mare număr de cercetători au demonstrat că retinoizii au capacitatea de a preveni și inhiba procesul de carcinogeneză indusă prin iradiere, substanțe chimice sau prin unele virusuri oncogene: Sebroder și Black (1980); Lotan (1980); Dickens (1980); Sporn (1981); Speers (1982); Koebbler (1982). Cei mai activi retinoizi se consideră următorii: acidul 13-cis-retinoic (izotretinoin) și retinoizii aromatici: RO 10-9359 (etretinat) și RO 11-1430 (motretinid).

De asemenea, s-a demonstrat (73, 23) că unele retinoide ameliorează leziunile preneoplazice și previn carcinogeneza chimică (94).

Retinoidele (vitaminele A), datorită structurii lor chimice, reechilibrează potențialul redox, inhibînd activitatea crescută a tirozinazei, care metabolizează tirozina pînă la melanine excedentare, ce transformă celulele normale în melanom (14).

De aceea, Enescu L. consideră că retinoidele trebuie să facă parte din terapeutica melanomului malign, alături de hidrochinonă și vitaminele C, E, K (14).

1.21. Carotenoidele, coloranți alimentari

În industria alimentară ca și în preparatele alimentare (margarina, untul, brînzeturile, prăjituri, bomboane, înghețată, răcoritoare, preparate de carne etc.) se folosește la colorarea alimentelor hidrosolubile și și liposolubile atît carotenii naturali, cît și sintetici. Dintre extractele carotenoidice naturale, cel mai utilizate pentru obținerea diferitelor culori sînt: a. de la carmin la roz — olcorezina extrasă din fructele coapte de ardei (capsicum annum), ai cărei pigmenți caracteristici sînt capsorubina și capsantina. Extractul este folosit la colorarea derivatelor de carne, salate, brînzeturi etc.

Scanned with OKEN Scanner

Extractele de tomate conţin licopina şi licofila, folosindu-se ca pigmenţi principali la colorarea preparatelor din carne.

b. De la galben la portocaliu extractul sau tinctura croci din stigmatele uscate de crocus sativus (şofran), al cărui pigment carotenic predominant este crocetina. Se foloseşte la colorarea produselor de carne, băuturi, răcoritoare, brînzeturi, unt, supe etc.

Dintre carotenoidele sintetice pentru colorarea alimentelor menţionăm : β-carotenul în suspensie, colorant de la galben la oranj-roşu ; β-apo-8-carotenul, colorant galben-roşu ; cantaxantina în suspensie colorează în roşu.

Industria le prepară şi sub forma de pudre în concentraţie de 1—10 % pigment pur.

1.22. Incompatibilităţi

Acetatul de retinol este incompatibil cu substanţele oxidante, cu uleiurile rîncede, cu guma arabică (peroxizi) (75), caolin, oleul de parafină, clorura de calciu, florura de sodiu, taurocolat de sodiu, Twen-20, arseniatul de sodiu, dietilaminoacetarsolul, nitrofenilfosfatul, diizopropilfluorofosfat.

Observaţii

Vitaminele A sînt mai bine rezorbite dacă sînt solubilizate cu substanţe tensioactive, care influenţează permeabilitatea membranelor, favorizînd resorbţia substanţei active farmacodinamice.

E. Ozean şi colaboratorii (95) au efectuat un studiu, în care au fost urmărite valorile serice ale retinolului şi β-carotenului prin spectofotometrie, la 21 subiecţi cu hiperostoză spinale şi 23 subiecţi martor; au fost eliminate cauzele cunoscute ale perturbării metabolismului vitaminei A; autorii au ajuns la concluzia că subiecţii cu hiperostoze spinale prezentau valori crescute ale retinolului şi β-carotenului ; de asemenea, semnalează că administrarea în doze foarte mari a vitaminei A poate produce apariţia proliferărilor osoase spinale.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. GONTEA I., Alimentaţia raţională a omului. Ed. Did. Ped. Buc. (1970). **2.** LILLIE R. D., Natl. Insts. Helath Bulf. 13 162 (1933). **3.** MC COLLUM E. V., SIMMONDS N., J. Biol. Chem., 32, 181, 347 (1917). **4.** KARRER P., MORF R., SCHOPP K., Helv. Chim. Acta, 14, 1 036, 1 431 (1931). **5.** KUHN R., MORRIS C. J., Berichte, 70, 853 (1937). **6.** PORTER J. W., LINCOLN R. E., Arch. Biochem. 27, 390 (1950). **7.** MACKINNEY G., Ann. Rev. Biochem. 21, 473 (1952). **8.** RABOURN W. J., MASE J., Vitamins (Japon), 15, 182, (1968) **9.** KEMPTER G., Structur und Synthese von Vitaminen Akad. Verlag Berlin (1964) **10.** MATHEWS-ROTH M. M., HAING R. G., KINNEY R. T., Am. J. Dis. Child., 131, 366 (1977)

Scanned with OKEN Scanner

11. TAMAS V., NEAMȚU G., Pigmenți carotenoidici și metaboliți. Vol. I, Ed. Ceres, București (1986). **12.** CHIOSA I., NEWMAN M., Vitamine și antivitamine. Ed. Med. Buc. (1955). **13.** ANDREI GHEORGHIU și col. Biochimia și fiziologia legumelor și fructelor. Ed. Acad. București (1983). **14.** ENESCU L., Biochimie. Vitamine liposolubile. Litografia IMF Iași (1975). **15.** JITARIU MATILDA, Memoriile Sect. Științ. seria IV, 5, 1, 235 (1985), Ed. Acad. RSR, București. **16.** BEDELEANU D., MANTA I., Biochimie medicală, vol. I, Ed. Dacia Cluj-Napoca (1985) ; MACKINNEY G., J. Biol. Chem. 234, 598 (1959). **17.** CROOK E. M., EL-MARSAFY M. K., Biochem. J. 8, 57 (1954). **18.** XXX Handbook of experimental Pharmacology, 69, Ed. Sears. M. L. (1984) **19.** MOATTI M. P. (Thesis) Université d'Alger. Contribution a l'Étude de la Biogènese de la Vitamine des Poisonss (1959). **20.** GOLDSMITH T. H., J. Gen. Physiology 47, 433 (1964). **21.** BERGER S., GRONOWSKA-SENGER A., Acta. Vitamin. enzymol. (Milano), 28, 103 (1974). **22.** CERNEA P., FLORICA IGNAT, MARIA POPESCU, Oftamologia, 2, 103—108 (1986). **23.** XXX Pharmacopée Européene. Ed. II. Ed. Maisoneuve (1983). **24.** De LUCA L., ROSSO G., WOLF G., Biochem. Biophys. Res. Commun., 41, 615 (1970). **25.** OLSON J.A., Fed. Proc. Exp. Biol., 28, 1 670 (1969). **26.** GAUNELIE H., MARNAY C., Savoir Interpretér les signes et tests des carences vitaminiques-les editions de visscher — Bruxelles—Paris (1964). **27.** ENESCU L., BAZGAN L., Biochimie medicală Biocatalizatori. Lit. IMF Iași (1978). **28.** GREGU I., NEAMȚU M., ENESCU L., Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice. Ed. Junimea Iași (1982). **29.** ENESCU L., Farmacologie veterinară. Ed. Did. Ped. Buc. (1969), 563 (1950). **30.** TIMAR MAGDALENA, Bazele terapiei raționale a ficatului. Ed. Centr. Med. (Buc.) (1984). **31.** HERLOG F.H., RUSSEL R.M., MODDREY W.C., Hepatology 1, 4, 348—351 (1981). **32.** ENESCU L., Biochimie I, Lit. IMF Iași, 527 (1979). **33.** SONDERGAAR D.E., Experientia (Basel) 28, 773 (1972). **34.** GRAVESEN K.J., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 20, 57 (1967). **35.** PETERSON P.A., J. Biochem. 246, 34 (1971). **36.** ENESCU L., Biochimie medicală, vol. II, Lit. IMF Iași (1978). **37.** REACHINY H.W., Biochem. J. 100, 34 (1976). **38.** DINGLES J.T., Biochem J. 79, 509 (1961). **39.** LINDER M.C., ANDERSON G.H., ASCARELLI I., J. Biol. Chem. 246, 5 538 (1971). **40.** ROSETTI-COLTOIU MARIA, OȚELEANU D., Biocatalizatori în practica medicală și farmaceutică. Ed. Med. (Buc.), (1980). **41.** DINGLE J.T., Br. med. Bull. 24, 141 (1968). **42.** BACQ Z.M., Fundamentals of Biochemical Pharmacology, Pergamon Press, Oxford (1971). **43.** GARFIELD D., DUNCAN G., Bolile metabolismului. Ed. Med. București (1976). **44.** MANTA I., Biochimie medicală, Ed. Did. București (1965). **45.** SUBBA-RAO K., SESHADRY P., GANGULY J., Biochem. J., 87, 312 (1963). **46.** JUNEJA M.S., MANGARE R., GANGULY J., Biochem. J., 97, 11 (1979). **47.** GANGULY J., WAYMFORTH H.B., Biochem. J., 123, 669 (1971). **48.** McHOWELL J., THOMPSON J.N., PITT G.A.J., Brit. J. Nutr. 21, 373 (1967). **49.** GOODWIN T.W., Experientia 10, 213 (1954). **50.** MALATHI P., SUBBA-RAO K., SESHARDI-SASTRI P., GANGULY Y., Biochem. J., 87, 305, (1963). **51.** ENESCU L., ARDELEAN V., CHERA G., Lucrările St. Inst. Agronomic Iași, 237 (1972). **52.** CEUESS R.L., CLARK I., Biochem. J., 96, 262 (1965). **53.** FELL H.B., DINGLE J.T., Biochem. J., 85, 403 (1983). **54.** MIHAIL S., Rev. Oftalmologia, 4, 241—245 (1981). **55.** TERROIN T., Les interrelations vitaminiques. Ed. du Centre National de la Recherché St. Paris (1986). **56.** McGRAW C.R., Soc. Biol. 155, 2 056 (1981). **57.** SICKOVA A.P., Higiena-Sanit. 2, 41 (1963). **58.** MEYERS Fr., N., JAWETZ Fr, ALAN GOLDFIEN, Farmacologie clinică. Ed. Manual Moderne Mexica (1982). **59.** PUDELKIEWICZ W.J., WELESTER L., MATTERSON L.D., J. Nutr., 81, 415 (1963). **60.** GRONOWSKA-SENGER A., RACKZYNSKA M. BERGER S., Roczn., PZH., 1, 65 (1973). 89 (1965). **61.** ENESCU L., Biochimie, Lit. IMF Iași (1979). **62.** LAKSHMANN M.R., CAMA M.R., JOSHI V.C., RAMASARMA T., B.B.A., 170, 392 (1968). **63.** BONTWELL K.R., WERMAK A., Pure Appl. Chem. 51, 857 (1979). **64.** LECOQ R., Vitamins et hormones. Ed. Doin, Paris (1965). **65.** LECOQ R., L' analyses médicales et biologie clinique. Tom. I, Ed. Doin, Paris (1977). **66.** PROSPERI L., GHINELLE P., Ann. Oftal. Clin. Oculist (Parma), 217—221 (1977). **67.** OLTEANU M., Tratat de oftalmologie. Ed. Med. Buc. (1989). **68.** ȘUTEU E., CONSTANTINESCU V., TAMAȘ V., KADAR L., CIURDARU V., Arch. Experm. Vet. Med. Leipzig 35, 231 (1981). **69.** XXX

Scanned with OKEN Scanner

Official Methods of Analysis 9th Edn. Ann. Offic. Agric. Chem. Washington, D.C. 652 (1960). **70.** TAMAŞ V., ŞUTEU E., ANGI ST., Cer. Biochim. 16, 309 (1973). **71.** XXX Farmacopeea Română Ed. IX, Ed. Med. Buc. (1976). **72.** MUREŞANU V., SIMIONOVICI M., Standardizarea biologică a medicamentelor. Ed. Med. Buc. (1955). 261. **73.** METHEWS-ROTH M.M., Clin. Res. 28, 477 (1980). **74.** EHBERT R., COLLNICK H., ORLANOS F.C., 17-th World Congress of Dermatology, P II, 400. Berlin, (1987). **75.** ANTONESCU S., NEDELCU I., 17-th World Congress of Dermatology, P. II, 234, Berlin (1987). **76.** ORFANOS C.E., Brit. J. Derm. 109, Supll. 1, 25, 55 (1983). **77.** STRAUS J.S., J. Americ. Acad. Derm. 10, 3, 491 (1984). **78.** J. BIRÓ, GY. SOOS, I. TÖRÖK, 17-th World. Congress of Dermatology, P. II, 182, Ed. University Med. Center Steligtz. Berlin (1987). **79.** J. van WAUWE, P. STOPPIE, J.Z. GOOSENS, J. Van CUSTEM, M. BORGERS. 17-th World Congress of Dermatology, P. II, 230, Berlin (1987). **80.** GRECU I., ENESCU L., Ghidul farmacistului practician. Ed. Med. Buc. (1967). **81.** Speers W.C., Cancer Res. (1982), 42, 1 843—1 849. **82.** SOMMER A., Depistage et traitement de la xerophtalmie, Ed. 2e, Genève, OMS (1982). **83.** SOMNER A., Nutritional blindness : xerophtalmia and keratomalacia. New-York, Oxford University Press (1982). **84.** Eastman S.J., Vitamina A deficiency and xerophtalmia. Recent findings and some programme implications. New-York. UNICEF/FISE (1987), **85.** SOMMER et al., Increased mortality in children with mild vitamin A deficiency. Lancet, 2, 585—588 (1983). **86.** UNDERWOOD B.A., The rafe use of vitamin A by women during the reproductive vears. New-York, IVACG (1986). **87.** OMS/FISE/IVACG, Suppléments en Vitamine A., OMS, Genève (1989).**88.** SOMMER A., et al., Increased risk of respiratory disease and diarrhoea in children with pre-existing mild vitamin A deficiency. American Journal of Clinical Nutrition, 40 : 1 090—1 095 (1984).**89.** WEST K. P., SOMMER A., Periodic large oral doses of vitamin A for the prevention of vitamin A deficiency and xeroftalmia : a sumary of experiences. New-York, IVACG (1984). **90.** SOMMER et al. Impact of vitamin A supplémentation on childhood mortality. Lancet, 11 169—1 173 (1986). **91.** NETESHEIM P., SNYDER C., WILLIAMS M.L., CONE V.M., KIM C.J., Proc. Am. Assoc. Cancer. Res. 16, 44 (1975). **92.** ROGERS E.A., HERNDON J.B., NEWBERNE M., Cancer Res. 33, 103 (1973). **93.** LOTAL L.R., ONG E.D., CHYTIL F., J. Natl. Cancer Inst., 64, 1 259 (1980). **94.** PETRESCU D.A., Rev. Oftalmologia 2, 87—94 (1983). **95.** OZEAN E. şi col., Al IV-lea Simpozion de reumatologie mediteraniană (Istambul, iunie 1988), Reumatologie, 41, 3, 101 (1989). **96.** GRIGORESCU EM., STĂNESCU URSULA, IONESCU A., DORNEANU V., STAN MARIA, MIFTODE MARIA, BIRCA C. — Al. IX-lea Congres Naţional de Farmacie, Bucureşti (1989). **97.** COLTOIU AL., SANDA POPESCU, GEORGETA GROSU, Dermatovenerologie 2, 123—130 (1986).

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL 2

VITAMINELE D. CALCIFEROLII

2.1. Istoric

Fr. Glisson a descris, în 1650, maladia denumită „boala englezească", care nu era altceva decît rahitismul. În mod deosebit s-a observat această maladie la copiii subnutriți, din marile orașe ale Europei și, în special, în Anglia ; într-o proporție mai mică s-a observat în țările sudice, care sînt mai însorite și, de asemenea, într-un număr mult mai mic, la copiii din țările regiunii polare.

În 1906, Hopkins a demonstrat că rahitismul este un rezultat al unei nutriții necorespunzătoare, asemănătoare cu beri-beri și scorbutul. Aceste constatări au fost confirmate în 1919, de Mc.Collum și Mellamby.

Medicul de copii K. Huldsinschi din Berlin, tot în aceeași perioadă (1919), a însănătoșit unii copii bolnavi de rahitism prin iradierea lor la lumină solară sau raze ultraviolete.

În același an, Mellamby vindecă rahitismul păsărilor cu untură de pește.

Cercetările ulterioare, în special ale lui Mc.Collum, arată că principiul antirahitic din untura de pește este diferit de factorul A și o numește vitamina D. Cîțiva ani mai tîrziu (1924—1925), Hess și Weinstock, Steenbock și Black, independent unii de alții, au demonstrat că unele alimente de natură vegetală și animală, fără acțiune de vindecare a rahitismului, devin active prin iradiere cu raze ultraviolete. Astfel, s-a ajuns la concluzia că în untura de pește se găsește vitamina antirahitică, gata elaborată.

A. F. Hess a stabilit, în 1925, că unele sterine, după iradiații cu raze ultraviolete, nu mai prezentau aceleași benzi de absorbție, iar alimentele care conțineau steroli, după ce erau supuse iradierii cu ultraviolete, aveau efecte antirahitice.

De aici s-a tras concluzia că în pielea bolnavilor și în hrană există o substanță, provitamina D, care se transformă în vitamina D sub acțiunea luminii. Ulterior, diferite componente ale hranei au fost supuse iradierii cu lumina ultravioletă, stabilindu-se că părțile nesaponificabile ale grăsimilor dobîndesc, după iradiere, activitate de vitamină D.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările au arătat că colesterolul pur supus iradierii nu prezintă proprietăți antirahitice, în schimb colesterolul impurificat, după iradiere, vindecă rahitismul experimental.

A. Windaus a stabilit (1926) că spectrul de absorbție al colesterolului nepurificat are o bandă de absorbție maximă la 280 nm, în timp ce banda de absorbție a colesterolului pur este mult mai mică. Cercetarea sterolilor cunoscuți în acel timp a dus la concluzia că numai ergosterolul avea un maxim de absorbție la 280 nm, ceea ce a făcut să se presupună că este provitamina D.

Windaus, Pohl, Hess, Rosenheim și Webster au găsit, în 1926, că ergosterolul însoțește permanent colesterolul și, la iradiații cu ultraviolete ($\lambda = 280$ nm), trece într-o combinație izomeră $C_{28}H_{43}OH$, care în doze mici are efecte antirahitice.

Acest sterol a fost găsit în cantități variabile în drojdia de bere, cornul de secară (ciuperca Claviceps purpureea), precum și alte ciuperci parazite.

Ergosterolul, după ce a fost supus iradierii cu raze ultraviolete, s-a administrat la șobolanii și la puii cu rahitism experimental, dovedindu-se că este mai activ la șobolani decît la pui, spre deosebire de untura de pește la fel de activă la ambele specii. Acest fapt a dus la concluzia că pot exista mai mulți compuși cu acțiune vitaminică, iar ergosterolului i s-a dat denumirea de „provitamină" specifică.

În 1930, Webster și Askew, distilînd amestecul rezultat de la iradierea ergosterinei, obțin un produs cristalin cu puternic efect antirahitic, denumit „calciferol".

A. Windaus și elevii săi (Linsert, Luttring) au reușit, în 1931, să izoleze o substanță cristalină, pe care au denumit-o vitamina D_1.

Vitamina D_1 s-a dovedit a fi o combinație de molecule, rezultată din două produse de iradiere, și anume a hemisterinei și a produsului pur denumit vitamina D_2. Alături de această vitamină se formează, prin iradierea ergosterolului, și unii izomeri ai vitaminei D_2, care nu au acțiune fiziologică.

Din produsele iradiate ale ergosterolului s-au mai izolat, în afară de vitamina D_2 și hemisterină, și alte substanțe: tahisterolul, suprasteroli, pirosteroli.

A. Windaus, în 1932, a stabilit o schemă a iradierii, după care ergosterolul trece în vitamina D_2 prin faze intermediare — lumisterol, tahisterol — și care, prin iradiere suplimentară, formează suprasteroli.

Ulterior, pe cale chimică, s-a preparat din colesterol 7-dihidrocolesterolul care conține, ca și ergosterolul, două duble legături în ciclul B. La iradiere, 7-dehidrocolesterolul se comportă la fel ca ergosterolul, dînd un produs cu activitate vitaminică D, precum și o serie de compuși inactivi. Această vitamină a fost denumită vitamina D_3 sau colecalci-

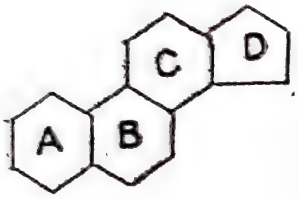
Scanned with OKEN Scanner

ferolul, care s-a dovedit identică cu vitamina D izolată și cristalizată din ficatul unor specii de pești albaștri.

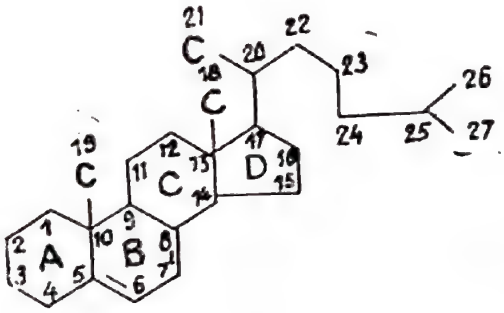
În ultimii ani s-au obținut, prin acțiunea radiațiilor asupra sterolilor, și alte vitamine, din care cele mai importante sînt : D_4, D_5, D_6 și D_7.

2.2. Provitaminele D

Provitaminele fac parte, din punct de vedere chimic, din clasa mare a steroidelor, care cuprinde substanțe mult mai răspîndite în natură (steroli, acizi biliari, hormoni sexuali, hormoni corticosuprarenali și genine) și care au scheletul de carbon tetraciclic de ciclopentano-perhidrofenantren (I).



I



II

Steroidele se deosebesc între ele prin natura substituienților și gradul de nesaturare al nucleului tetraciclic, precum și prin natura catenelor laterale R_1 și R_2. Pozițiile substituienților se notează în molecula steroidelor conform formulei II, care indică colesterolul ($C_{27}H_{46}O$).

Sterolii cu 28 C au o grupă CH_3 la C_{24}, iar sterolii cu 29 C (fitosterolii) au o grupă C_2H_5 la același carbon.

Substituienții centrelor de asimetrie moleculară situați deasupra planului general al nucleului sînt notați cu β, iar cei situați sub planul nucleului sînt notați cu α. Grupa CH_3 de la C_{13} are configurația β, ca și grupa CH_3 de la C_{10}.

Legăturile cu nucleul ale substituienților cu configurația β se notează în formule cu linii pline, iar ale substituienților α, cu linii punctate.

Sterolii (stereos=solid) sînt alcooli cristalizați, care se găsesc atît liberi, cît și esterificați cu acizi alifatici superiori, în lipidele tuturor animalelor și plantelor ; ei se izolează din porțiunea nesaponificată a acestora. După proveniență, sterolii au fost clasificați (1) în zoosteroli (de la animale), fitosteroli (din plante), micosteroli (din drojdie și fungi) și steroli marini (din burete de mare).

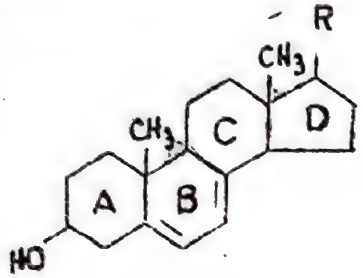
Pentru ca un sterol să fie provitamină D este necesar ca în ciclul B să aibă un sistem de duble legături conjugate în pozițiile 5—6 și 7—8. De aici, se observă că nu originea sterolului îi conferă acestuia rolul de provitamină, ci structura.

Windaus a explicat pentru prima oară structura provitaminelor, arătînd că au la bază ciclopentano-perhidrofenantren (I), ce conține 4

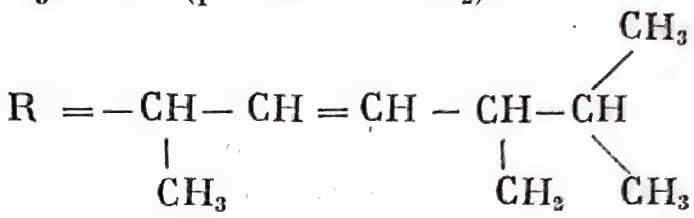
Scanned with OKEN Scanner

cicluri, A, B, C, D, iar în poziția 3 o funcție OH, iar în ciclul B două legături conjugate în pozițiile —6 și 7—8; la C_{10} și C_{13} au cîte un CH_3, iar în poziția C_{17} prezintă o catenă laterală, care diferă de la o provitamină la alta.

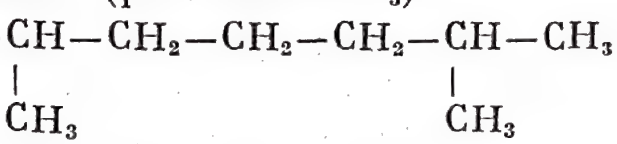
Dintre provitaminele D existente, cele mai importante sînt următoarele :



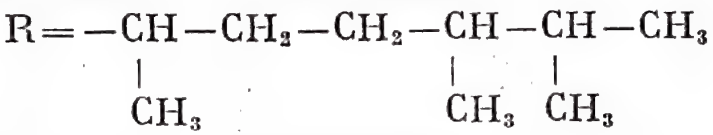
ergosetrol (provitamina D_2)



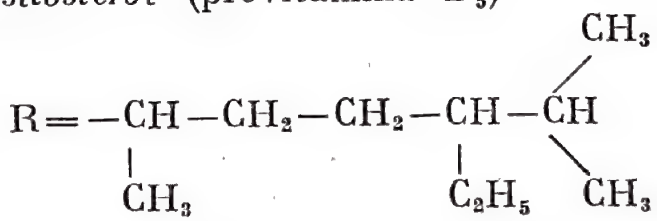
—7—*dehidrocolesterol* (provitamina D_3)



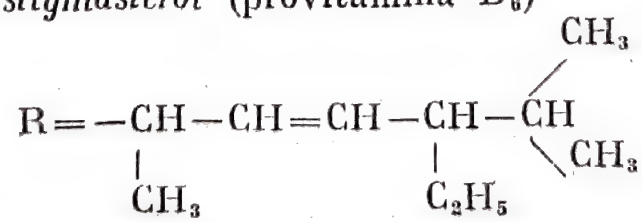
— 22-*dihidroergosterol* (provitamina D_4)



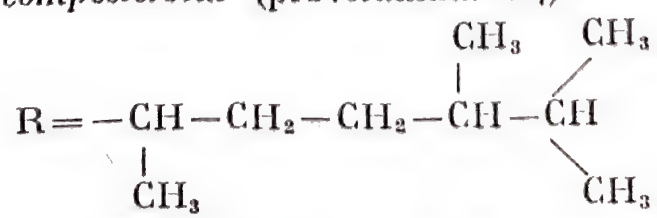
— 7-*dehidrositosterol* (provitamina D_5)



— 7-*dehidrostigmasterol* (provitamina D_6)



— 7-*dihidrocompesterolul* (provitamina D_7)



2.2.1. **Sursa provitaminelor.** În natură, provitaminele se găsesc în regnul vegetal și în regnul animal sub formă de steroli. Atît la om,

cît și la animale predomină 7-dehidrocolesterolul, pe cînd la vegetale, fitosteroli, sitosterolul și stigmasterolul (tabelul 19). Fitosterolii sînt prezenți și în membrana polenului; cei mai frecvenți sînt: colesterolul, 24-metilcolesterolul, β-sitosterolul, stigmasterolul, fucosterolul și compesterolul.

Polenul de stejar conține 100% β-sitosterol (Balttaglini M. și col., 1970).

În polen, dintre fitosteroli, în majoritatea cazurilor predomină stigmasterolul, apoi ergosterolul, care reprezintă circa 50% din proporția de stigmasterol și colesterol.

În polenul de secară, Hallgreen B. a găsit fitosteroli 4,9% și esteri ai fitosterolului 9,3% din totalul lipidelor extrase eteric. Fitosterolii din polenul de porumb reprezintă circa 0,1% din polenul uscat.

Hrana omului conține deci provitamine ca și vitamine D. De asemenea, se mai găsește provitamină D_2 în levuri, în numeroase ciuperci inferioare și superioare, în boabe de cacao, moluște etc.

Provitamina D_3 se găsește în uleiul de ficat de pește, lipidele animalelor, slănina cu șoric, carnea de heringi, de sardele, ficatul mamiferelor, în lapte și unt.

Tabelul 19

Conținutul în fitosteroli ai legumelor și fructelor (mg/100 g parte edibilă (3))

Specia	Total fitosteroli	β-sitosterol	Stigmasterol	Compesterol
Cartofi	5,0	3,0	1,0	—
Castraveți	14	14	—	—
Ceapă	15	12	1	3
Conopidă	18	12	2	3
Mazăre verde	—	106	10	10
Morcov	12	7	3	1
Salată	10	5	4	1
Sparanghel	24	14	4	1
Tomate	7	3	3,5	—
Vinete	7	3	2	—
Banane	16	11	3	2
Caise	18	16	—	1
Căpșuni	12	10	—	—
Castane	22	18	2	2
Lămîi	12	8	1	2
Mere	12	11	—	1
Nuci	108	87	—	6
Pere	8	7	—	—
Piersici	10	6	3	1
Struguri	4	3	—	—
Migdale	143	122	3	5
Smochine	31	27	3	1

Tabelul 20

Conținutul alimentelor în provitamină D(2)

Aliment	Provitamina D, în steroli (g/%)
Grăsime de pasăre	1—4
Carne de pasăre	0,001—0,01
Creier de vacă	0,1
Inimă de vacă	0,032
Pancreas de vacă	0,18
Ser sanguin de vacă	0,15
Stridii	5—6
Spanac	1
Ulei de grîu	0,8
Varză	0,05

2.2.2. **Izolarea provitaminelor D.** Ergosterolul (provitamina D_2) se găsește în cantitate mică, ca un însoțitor al colesterolului.

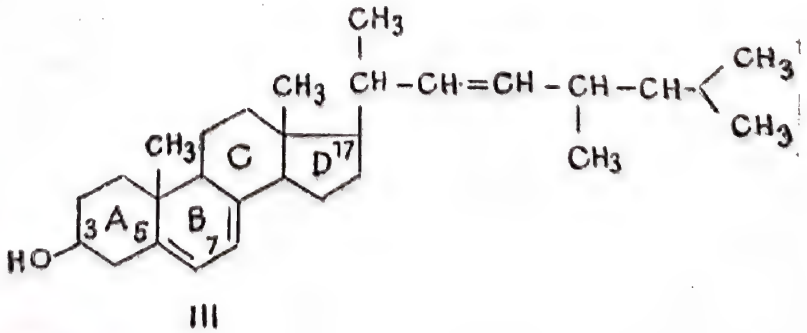
Pentru izolarea provitaminelor în laborator, se utilizează procesul de saponificare al grăsimilor, separîndu-se fracțiunea nesaponificabilă. Din aceasta se separă, prin cristalizări din alcool, provitaminele respective.

Industrial, obținerea provitaminelor D_2 se face din drojdia de bere și anume, din 170 kg drojdie proaspătă se poate obține 500 g provitamină D_2, cantitatea obținută fiind cu atît mai mare, cu cît mediile de cultură sînt foarte bine aerate și la un pH acid.

Provitamina D_3 (7,8-dehidrocolesterolul), care este una din cele mai importante provitamine ale omului și animalelor, se formează în intestin prin dehidrogenarea colesterolului, dar se formează și în piele. Izolarea acestei provitamine din pielea cu grăsime a corpului a fost făcută în 1937 de A. Windaus.

Singurele metode care au dat rezultate în separarea provitaminelor au constat în : **a.** cristalizarea fracționată a esterilor ; **b.** cromatografierea pe coloană (cu alumină sau schimbători de ioni) sau pe hîrtie ; **c.** sublimarea în vid.

2.2.3. **Ergosterolul** ($C_{28}H_{44}O$), p.t. = 174°C, $\alpha_D = -20°$, diferă de colesterol întrucît are un carbon în plus legat la C_{24} ; acesta a fost dobîndit prin ozonizare, care conduce la metil-izopropil-acetaldehidă.



III

Prin procesul de hidrogenare catalitică, ergosterolul se transformă în ergostanol. Poziția celor două duble legături conjugate în nucleul B a fost stabilită prin oxidare, de A. Windaus și C. Heilborn, în 1934, fapt confirmat mai tîrziu și prin spectrul de absorbție.

Biosinteza ergosterolului a fost studiată cu izotopi radioactivi, primele cercetări fiind efectuate de R. Sanderhoff și H. Thomas (3), care au incubat acetatul (acetil CoA), marcat cu deuteriu, cu levura Saccharomices cerevisiae, izolînd fracția de sterol marcată.

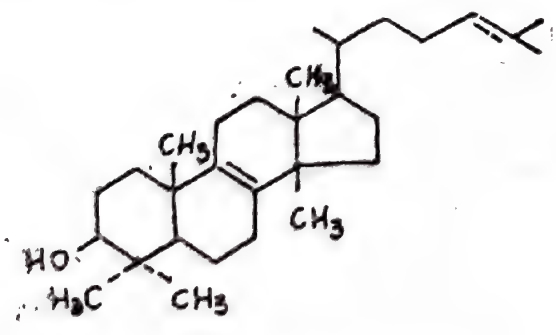
Ulterior, Hanahan D. și Wahil S., ca și Schwenk E. și col. au folosit și C^{14} în acetatul de sodiu, în cercetările biogenezei acestui sterol, găsind că 27 atomi de carbon, din cei 28 existenți la acest sterol, au apărut din ciclizarea squalenului. Acesta se transformă în lanosterol, zimosterol și colesterol, iar atomul de carbon 28 provine din formiați sau din metionină.

Biosinteza ergosterolului în țesuturile animale pornește, ca și în drojdie, de la acetil-CoA, trecînd prin faza de izopren activ, care se polimerizează formînd squalenul care, prin ciclizare, formează compuși steroidici (4).

Ergosterolul cristalizează în forme geometrice în funcție de solventul organic ; astfel, din eter cristalizează sub formă de ace higroscopice, iar din alcool, sub formă de cristale mici incolore, cu o moleculă de apă de cristalizare. Nu este solubil în apă, însă este solubil în 28 părți eter cald, în 32 părți cloroform cald, în 50 părți eter rece și în 525 părți cloroform rece ; formează esteri cu acizii : acetic, palmitic, benzoic.

2.2.3.1. *Lanosterolul* ($C_{27}H_{50}O$) a fost izolat întîi din lanolină ; se mai găsește în drojdia de bere.

I. Jeger și K. Ruzicka (1950—1952) au stabilit structura lanosterolului prin degradări simetrice.

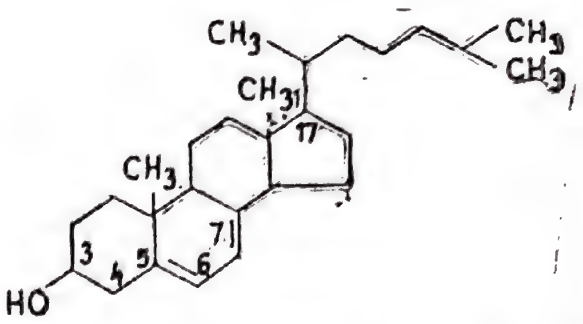


IV

Lanosterolul are 7 atomi de carbon asimetrici, care au aceeași configurație ca în colesterol, iar cele două duble legături ocupă aceleași poziții în scheletul de carbon, ca în zimosterol.

În 1926, s-a observat că șobolanii hrăniți cu squalen prezentau colesterolul într-o cantitate mai mare în ficat. Prin hrănirea unor șobolani cu acetat —^{14}C, s-a putut izola din ficatul acestora squalen marcat (8). S-a mai stabilit că squalenul marcat este transformat, în organismul șoarecelui, în colesterol marcat.

Produsul de oxidare al colesterolului este 7-dehidrocolesterolul (V), fapt arătat de M. Glover și A. Morton (8), precum și de N. Festenstein și D. Frantz . Are o grupare metil mai puțin decît ergosterolul.



V 7 - DEHIDROCOLESTEROL

Mai este numit și provitamina D_3. Se găsește mai ales în pielea animalelor și sub acțiunea luminii solare se transformă în vitamina D_3. Cristalizează dintr-un amestec de alcool și eter sub formă de plăci, cu punctul de fuziune la 142° — 143,5°C. Cu $SbCl_3$ formează colorații albastre ; 7-dehidrocolesterolul precipită cu digitonina. Deviază planul luminii polarizate la 113,6°C în soluție cloroformică, iar absorbția în ultraviolet este de 281 nm (2).

2.2.3.2. *Zimosterolul* a fost sintetizat tot din drojdie și izolat în formă radioactivă, de E. Schwenk și col., din Saccharomices cerevisiae, care a fost incubat cu acetat-C^{14}.

K. Block (6) a demonstrat, cu ajutorul omogenatului de ficat de șobolan, metabolismul zimosterolului spre colesterol ; D. Johnston a indicat zimosterolul ca un intermediar în biosinteza colesterolului din acetat.

2.2.3.3. *Desmosterolul* a fost izolat din embrionul de găină, precum și din creierul puilor de șobolan.

Dintre provitaminele cele mai cunoscute ale vitaminelor D, amintim :

2.2.3.4. *Provitamina* D_4, denumită 22-dihidroergosterol ($C_{28}H_{46}O$), se prezintă sub formă de cristale, care se topesc la 152°C, deviind planul luminii polarizate la —109°.

2.2.3.5. *Provitamina* D_5, denumită și 7-dehidrositosterol ($C_{29}H_{47}O$) se află sub formă cristalină, cu punct de topire 144° — 145°C ; deviază planul luminii polarizate în cloroform la —116°.

2.2.3.6. *Provitamina* D_6, denumită 7-dihidrostigmasterol, se găsește sub formă de cristale, care se topesc la 154°C ; deviază planul luminii polarizate în benzen la —113°.

2.2.4. **Sinteza provitaminelor.** Prima sinteză a fost efectuată de Windaus, în 1935, prin transformarea colesterolului (II) (R—H) în acetat de colesterol.

De asemenea, din ergosterol A. Windaus a obținut și provitamina D_4 sau 22,-dihidroergosterolul, prin hidrogenarea lanțului lateral în prezența platinei, cu ajutorul anhidridei maleice, la cald.

Provitamina D_5 s-a sintetizat din izomerii de sitosteroli, extrași din uleiul de soia, care au fost supuși mai întîi oxidării cromice și apoi unui proces de reducere.

Scanned with OKEN Scanner

Provitamina D_6 a fost sintetizată din stigmasterol, prin oxidarea cromică a acetatului de stigmasterol, iar printr-o reducere se obțin derivați de α-hidroxistigmasterol. De asemenea, prin oxidarea monoesterului ftalic al stigmasterolului, se ajunge la β-hidroxistigmasterol.

2.2.5. **Transformarea provitaminelor D în vitamine D.** Windaus A., în 1932, a arătat că sub acțiunea radiațiilor ultraviolete, provitaminele D se pot transforma în vitamine D. Ulterior, s-a constatat că și razele catodice, ca și emanațiile de radiu, curenții de înaltă frecvență etc. pot transforma provitaminele D în vitamine D.

Același autor a arătat că nucleul sterolic se rupe în poziția 9—10 sub influența radiațiilor, ajungîndu-se la o a 3-a dublă legătură. Noul compus nu mai are structura ciclopentanofenantrenică și nu mai precipită cu digitonina.

Cristalele, ca și soluțiile în alcool, eter, benzen, trietanolamină sau diferite uleiuri, supuse radiației ultraviolete în limitele 256—313 nm, sînt transformate în vitamine în proporție de 50—65%.

Unele substanțe fotosensibilizate, ca eozina și eritrozina, solvite în soluțiile de provitamine, au proprietatea de a mări proporția de transformare a provitaminelor.

Cercetările au arătat că solventul provitâminei are rol deosebit în procesul de transformare al provitaminelor D, sub influența iradiațiilor, în vitamina D. De exemplu, ergosterolul poate fi iradiat fie sub formă cristalină, fie în soluții alcoolice sau eterice ; prin iradierea cristalelor se ajunge la randamente foarte mici, întrucît produsele de iradiere de la partea exterioară a cristalelor protejează restul cristalelor de influența iradierii (7) ; dacă solventul este alcoolul, este foarte dificil evitarea suprairadierii cînd vitamina D_2 este transformată în toxisterol ; dacă solventul este eterul, procesul este mai ușor controlabil. Acest efect al solventului a determinat pe unii autori să-l numească „efect specific de solvent".

Uzual, pentru obținerea de preparate cu vitamine D sau a alimentelor bogate în vitamina D, care conțin provitamine, se utilizează iradierea cu raze ultraviolete ; procesul fotochimic care are loc este ireversibil (Windaus) și se efectuează în mai multe etape : ergosterol→lumisterol→tahisterol.

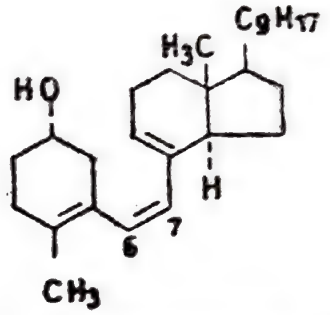
În cercetările efectuate de A. Windaus s-au folosit razele ultraviolete obținute cu ajutorul magneziului, iar soluția supusă iradierii a fost încălzită la cca 50°C, în timpul procesului de iradiere. Velluz L. (1949), urmărind influența temperaturii asupra fotoizomerizării ergosterolului, a iradiat soluția de ergosterol la o temperatură constantă (20°C), ajungînd la concluzia că prin iradierile asupra ergosterolului, efectuate după procedeul lui Windaus, se obține și o substanță intermediară, care poate fi transformată termic în vitamina D_2. El a denumit această substanță provitamina D_2.

Scanned with OKEN Scanner

Această provitamină D_2 (XIII) coexistă cu vitamina D_2 într-un echilibru termic :

$$\text{Provitamina } D_2 \underset{}{\overset{65°C}{\rightleftharpoons}} \text{Vitamina } D_2$$
$$35\% \qquad\qquad 65\%$$

În perioada 1955—1959, Velluz L. și col. au reușit să clarifice structura provitaminei D_2 (VI), stabilind o nouă schemă a fotoizomerizării ergosterolului. Prin această schemă se demonstrează că vitamina D_2 nu se formează prin reacția fotochimică directă a ergosterolului. După schema Velluz-Havinga, ergosterolul (III) trece printr-o combinație intermediară (VII) în provitamină D_2 (VI), în tahisterol (VII) și lumisterol (VIII), care se pot din nou izomeriza în ergosterol. Lumisterolul se deosebește de ergosterol numai prin poziția α a grupei CH_3 de la C_{10}. Aceste izomerizări fotochimice sînt, fără excepție, reversibile.



VI — PROVITAMINA D_2

Următoarea etapă constă în formarea echilibrului termic între provitamina D_2 (VI) și vitamina D_2 (IX). Provitamina D_2 poate fi transformată cantitativ, prin cataliză cu iod, în 6,7-transizomer-tahisterol (XV) și la fel, vitamina D_2, în aceleași condiții, trece în forma 5,6-trans-vitamina D_2 (XVIII).

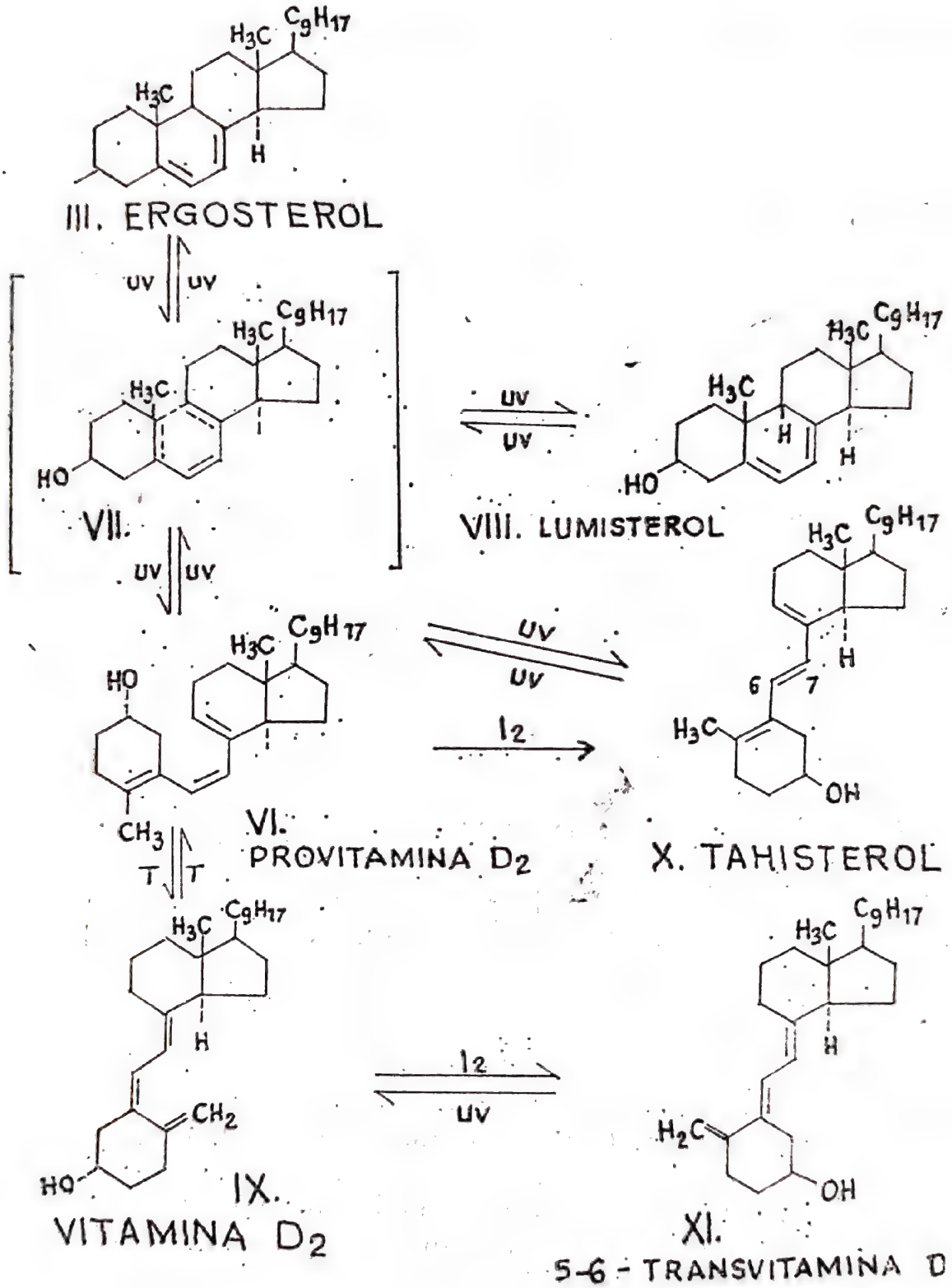
Printre produsele obținute prin hidrogenarea tahisterolului (X) se găsește și dihidrotahisterolul (XII) (pag. 107).

Precalciferolul, ca și calciferolul, fiind supuși iradierii cu raze ultraviolete, se transformă în produși toxici : toxisterol, suprasterol I (α_D = —76°) și suprasterol II (α_D = +63°C). De asemenea, încălzirea calciferolului la 125°C duce la apariția pirocalciferolului (α_D = +502°C), unde nucleul B se închide; pirocalciferolul este izomerul ergosterolului și are acțiune toxică.

— Lumisterolul (α_D = +191°) se obține în cantitate mare prin iradierea ergosterolului cu raze ultraviolete la 290—300 nm. Este puțin sensibil la acțiunea oxigenului și nu precipită cu digitonina, prezintă absorbția maximă la λ = 290 nm. Este inactiv în rahitismul experimental.

— Tahisterolul (α_D = —170°) prezintă absorbția maximă la 268, 280 și 294 nm ; are 4 duble legături în moleculă. Se obține prin iradierea ergosterolului și calciferolului la 254 nm, reacție ce este reversibilă.

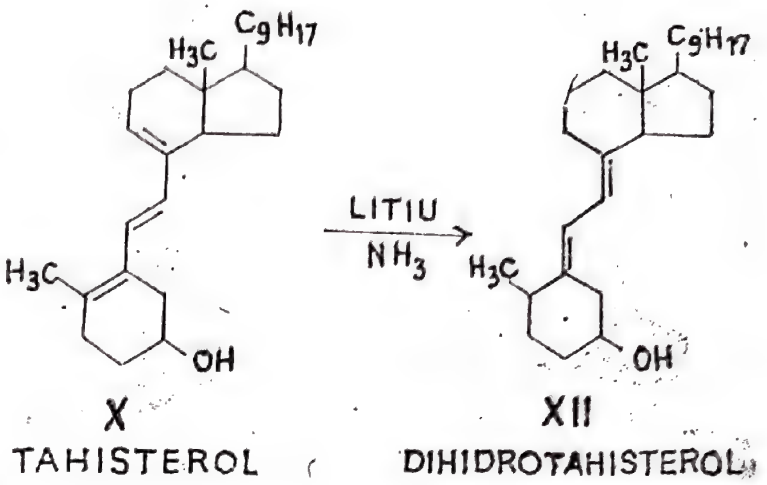
Prin hidrogenarea tahisterolului la legătura dublă, din poziția 5—6, se obține și dihidrotahisterolul (XII), care prezintă absorbția maximă la 242, 251 și 261 nm. Cercetările au arătat că, cu ajutorul litiului în amoniac lichid, se poate separa acest compus cu randament bun ; are activitate antirahitică de 500 de ori mai mică ca vitamina D ; se utilizează, din 1934, în terapeutică pentru creșterea conținutului de calciu la



tratamentul postoperator al tetaniei. Farmaceutic, poartă denumirea dată de Holtz — **AT$_{10}$** — (antitetanus preparat 10) și este folosit în stările de hipocalcemie paratiroidiană, întrucît mărește de 10 ori cantitatea de calciu sanguin, față de tahisterol.

Scanned with OKEN Scanner

— AT_{10} este prezentat de industria de medicamente sub formă de soluție uleioasă în concentrație de 1,25 mg/ml, precum și sub formă de capsule, conținînd 0,5 ml soluție uleioasă. A fost folosit în hipoparatiroidism, observîndu-se că poate înlocui parathormonul în tratamentul acestei maladii.



Dihidrotahisterolul favorizează mărirea excreției fosforului urinar, mai mult decît vitamina D, stimulează absorbția de calciu, la nivelul intestinului, mai puțin decît aceasta, și nu influențează direct țesutul osos (tabelul 21).

Tabelul 21

Efectele vitaminei D și dihidrotahisterolului asupra calciului și fosforului în organism (7)

Compus	Absorbția din intestin		Ser		Excreția urinară de P	Mobilizarea sărurilor din os
	Ca	P	Ca	P		
Vitamina D	++++	+	+	+	++	+
Dihidrotahisterol	++	0	+++	−	+++	0

\+ = creșterea medie
0 = efect nul
− = scăderea medi e

În procesul iradierii au loc o serie de transformări:

a. un rearanjament intermolecular, care face ca gruparea CH_3, fixată la C_{10}, să treacă din poziția β în poziția α, dînd astfel lumisterolul neprecipitabil cu digitonină; cercetările au arătat că nu numai ergosterolul, dar și 7-dehidrocolesterolul și 22-dihidroergosterolul, supuși iradierii cu raze ultraviolete, dau compuși de lumisterol;

b. acțiunea razelor ultraviolete duce la ruperea ciclului B între poziția 9 și 10, apărînd o nouă dublă legătură și, totodată, gruparea CH_3 își reia poziția β. Substanța nou apărută este tahisterolul, care nu mai are nucleu sterolic;

c. sub influența razelor ultraviolete, tahisterolul trece în provitamină D (precalciferol), producîndu-se, totodată, un rearanjament al dublelor legături din molecula de tahisterol ;

d. precalciferolul fiind instabil, prin ușoară încălzire se transformă într-o vitamină D—calciferol ; are loc o nouă aranjare a dublelor legături, iar metilul fixat la C_{10} devine meten ($=CH_2$) ;

e. printr-o iradiere continuă, ergocalciferolul este distrus, apărînd substanțe nedefinite ca structură, și anume toxisterolul și suprasterolii I și II, care sînt substanțe toxice ; dacă temperatura trece de 120°C, atunci apar pirocalciferolii.

2.3. Constituția chimică a vitaminelor D

Prin iradierea provitaminelor s-au obținut următoarele vitamine D :
— vitamina D_2 (ergocalciferol, calciferol) din ergosterol ;
— Vitamina D_3 (colecalciferol) din 7-dehidrocolesterol ;
— Vitamina D_4 (22-dehidroergocalciferol) din 22-dehidrocolesterol ;
— vitamina D_5 (22-dehidroergocalciferol) din 7-dehidrositosterol ;
— vitamina D_6 (22-dehidroergocalciferol) din 7-dehidrostigmasterol;
— vitamina D_7 din 7-dehidrocampesterol.

De asemenea, se cunoaște și vitamina D_1 formată dintr-un amestec echimolecular de vitamină D_2 și lumisterol, care se formează în cursul iradierii ergosterolului.

În funcție de răspîndirea în natură a vitaminelor, vitaminele D se găsesc în proporție mică.

Cantități mici de vitamine D se găsesc în unt, lapte și gălbenuș de ou ; un conținut mai mare de vitamine D se găsește în uleiul de pește.

Vitamine D au fost găsite în polen, în cantitate de 0,2—0,6 UI/g lipide de polen.

La animale și plante, provitaminele se transformă în vitamine, printr-un proces de fosfosinteză, sub acțiunea radiațiilor ultraviolete exogene. În epiderma omului, 50—75% din provitamină se transformă în vitamină, iar restul (25—50%), în țesuturile profunde. Vitamina formată în piele, pe cale circulatorie, este deplasată în restul organismului.

La peștii din adîncurile mărilor, ca și la ciuperci, biosinteza vitaminei D se face pe cale enzimatică.

În 1936, s-a izolat în cantități ceva mai mari vitamina D_3 cristalizată, din uleiul extras din ficatul unor specii de pești albaștri (Brokman).

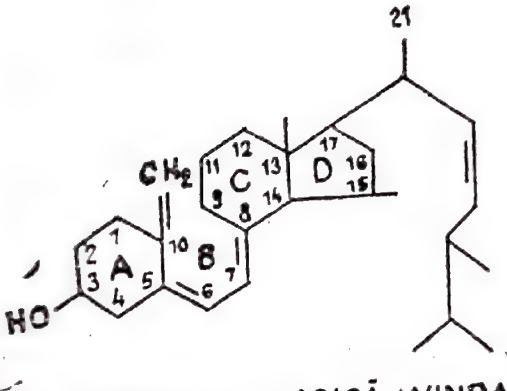
2.4. Vitamina D_2

După nomenclatorul internațional IUPAC, vitamina D_2 este considerată drept ergocalciferol.

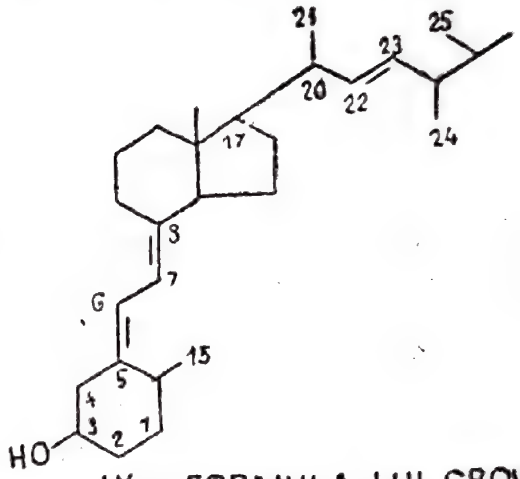
Scanned with OKEN Scanner

Se prezintă sub formă de cristale aciculare sau prismatice cu p.t. 114,5—117°C ; sînt insolubile în apă, dar solubile în eter, acetonă, benzen, alcool, eter de petrol, cloroform, grăsimi și uleiuri. Supusă temperaturii de 180°C, timp de 4 ore, își pierde activitatea fiziologică, distrugîndu-se. Se deosebește de ergosterol prin faptul că nu precipită cu digitonina. Este optic activă. În mediu alcalin este stabilă, însă se distruge în mediu puternic acid, ca și în prezența formaldehidei și a apei oxigenate.

Din punct de vedere structural, ergocalciferolul este un izomer al ergosterolului din care se obține, prin iradierea acestuia cu raze ultraviolete. Redăm atît formula stabilită de Windaus (XIII), cît și formula stabilită de Crowfoot cu ajutorul razelor X (IX).



XIII - FORMULA CLASICĂ WINDAUS



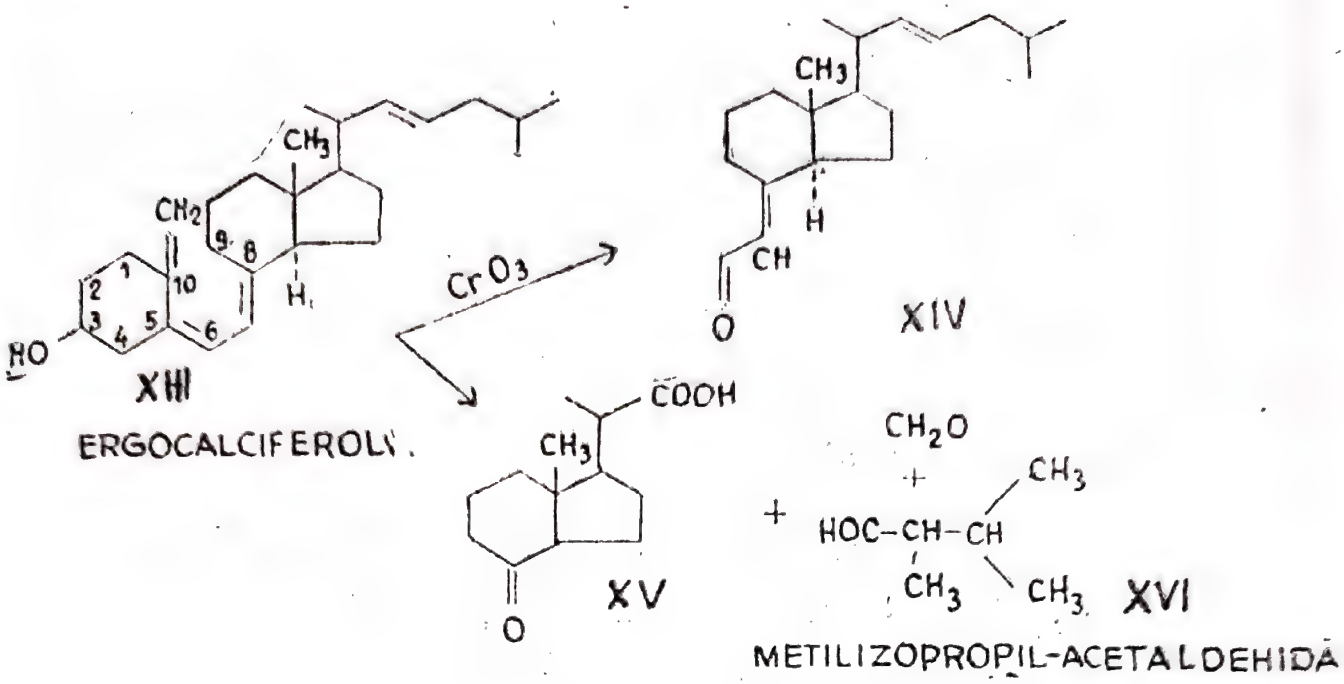
IX - FORMULA LUI CROWFOOT

Windaus, prin hidrogenări cu platină, a stabilit că vitamina D_2 prezintă 3 duble legături în nucleul sterolic, în pozițiile Δ_5, Δ_7, Δ_{10}, iar în catena laterală, în poziția Δ_{22} se găsește a 4-a dublă legătură.

Hidrogenarea cu seleniu a condus la obținerea de ergosterol și lumisterol și nu la 3'-metil-1,2-ciclopentanofenantren. Din acest proces chimic s-a dedus că unul din cele 4 inele s-a deschis. O confirmare a fost dată de adiția acidului maleic anhidru la vitamina D_2. De asemenea, tot o confirmare că inelul B este deschis a dat-o și reacția de oxidare a vitaminei D cu acid cromic, formîndu-se o α, β-aldehidă nesaturată (XIV), iar prin ozonizare s-au obținut acidul (XV), formaldehida și metil-izopropil-acetaldehida (XVI).

2.5. Vitamina D_3 (colecalciferol)

În natură, pe lîngă forma de provitamină D_3, a fost evidențiată și ca atare în untura de pește, carnea de hering și sardele, în ficatul de pește și mamifere, în laptele de vacă (0,002—0,005 mg ‰/ml), în unt, în gălbenușul de ou și sîngele mamiferelor, în laptele matern (0,001—0,015 mg‰/ml).



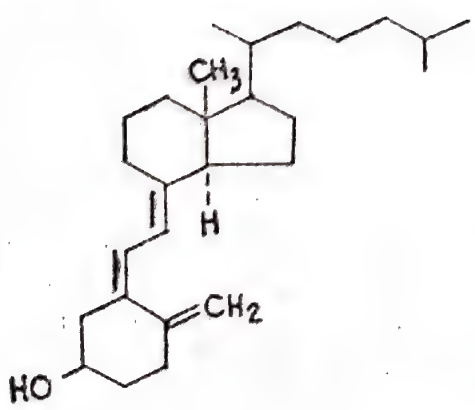
Majoritatea autorilor (8) o consideră adevărata vitamină D. A fost izolată împreună cu vitamina D_2 din uleiul de pește. Cercetările au arătat că există un raport între componentele din laptele de vacă și vitamina D_3, care depinde de :

— conținutul în materie grasă al laptelui, care este un caracter genetic al animalului influențat de alimentație, doar în mod secundar ;

— conținutul în vitamina D al laptelui este în funcție de expunerea la soare a animalului ;

— laptele conține provitamine : expunerea laptelui la razele ultraviolete face să apară vitamina D în cantități care depind de bogăția prealabilă în provitamine și de o bună conducere a iradierii.

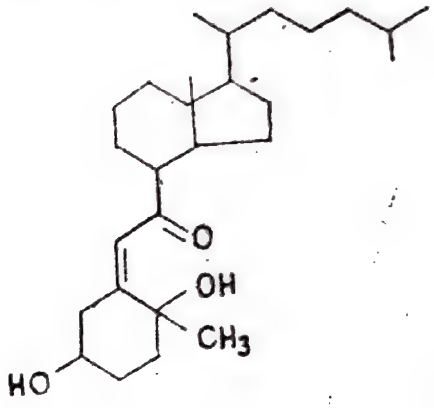
S-a stabilit structura chimică a vitaminei D_3 ca posedînd trei legături duble conjugate la atomii de carbon 5, 7, 10, iar în catena laterală neposedînd legături duble, fapt ce o deosebește de vitamina D_2. De asemenea, nu conține gruparea CH_3 la C_{24}. Provitamina 7-dehidrocolesterolul, supusă iradierii la lungimea de undă de 286 nm, a dus la obținerea vitaminei D_3.



2.5.1. **Sinteza vitaminei D_3.** Inhoffen C. și col. (1954—1959) au efectuat numeroase studii pentru sinteza vitaminei D_3 reușind ca, în 1959, să realizeze sinteza totală a acesteia.

Această vitamină D_3 sintetizată are în totalitate proprietățile și derivații produsului natural.

Pe baza unor cercetări, Bills și Raoul, în 1954, au obținut din colesterină, prin tratare cu oxid de aluminiu, un produs cu efect slab antirahitic care, prin tratare cu hidroxizi alcalini, trece în **Cetonă 250**, cu maximum de absorbție la 250 nm (9). Acest produs obținut formează un calciu enolat stabil, care are aceeași activitate antirahitică ca și vitamina D_3. Raoul a stabilit structura **Cetonei 250**. Ea se găsește în cantități mai mari decît vitamina D_3 în uleiul din ficatul unor pești (ton) și în unele plante superioare (graminee). **Cetona 250** poate fi separată prin metoda cromatografiei pe hîrtie, diferențiindu-se de vitamina D_3 (10).



CETONA 250

2.5.2. **Extracția din surse biologice.** Vitamina D_3 se extrage, de asemenea, din surse de origine biologică, mai ales din uleiurile grase extrase din ficatul unor specii de pești (11).

Izolarea vitaminelor D în stare pură necesită diferite etape într-o atmosferă inertă, iar solvenții organici (benzen, eter, eter de petrol, hexan, ciclohexan etc.) sînt saturați cu gaze inerte ca azot, bioxid de carbon.

În prima etapă are loc o saponificare a uleiului natural, separîndu-se fracțiunea nesaponificabilă.

În a doua etapă se separă vitamina A de vitamina D, după care se concentrează fracțiunea ce conține vitamina D, prin cromatografie de absorbție ; se îndepărtează apoi sterolii prin cristalizare sau precipitare fracționată cu digitonină.

În a treia etapă vitamina D se transformă în derivatul său 3,5-dinitrobenzoat sau alofat și esterul se purifică prin cristalizare.

În ultima etapă esterul purificat se saponifică, cristalizînd vitaminele D libere.

În scop terapeutic, se mai prepară în soluții uleioase sau în solvenți ca propilenglicol, dimetoxi-trioxihexan etc. De asemenea, se mai utilizează sub diferite forme farmaceutice : drageuri, capsule, tablete de vitamină D sau asociată cu vitamina A, sub formă uleioasă în fiole, iar pentru uz extern se prepară diferite unguente care conțin vitamină D.

Alimentele care conțin provitamine supuse iradierii duc la îmbogățirea lor în vitamină D.

De asemenea, colesterolul din alimente, ajuns în organism la nivelul intestinului subțire, datorită unei dehidrogenaze din mucoasa

acestuia, se transformă în 7-dehidrocolesterol (provitamina D_3). Provitamina D_3, ajunsă în țesutul celular subcutanat, sub influența radiațiilor, se transformă în vitamina D_3 (8, 9).

2.5.3. **Proprietățile fizico-chimice.** Vitamina D_3 se prezintă sub formă de cristale incolore, inodore, liposolubile, termostabile, rezistente la oxidare cu p.t. 82—84°C, $\alpha_D = +89°$ în acetonă. Este solubilă în solvenți organici.

Se degradează repede sub acțiunea aerului și luminii. Prin încălzire se izomerizează la precolecalciferol, care are numai 35% din activitatea colecalciferolului (D_3).

2.5.4. **Unități de activitate**

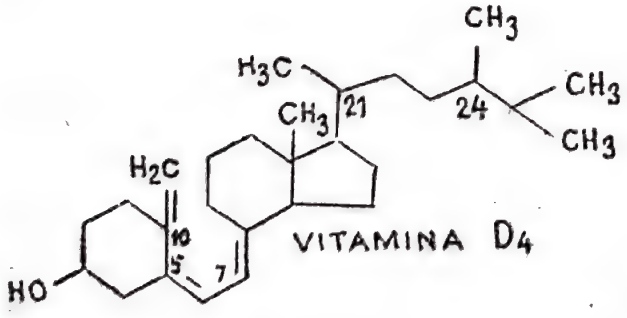
Unitatea internațională (U.I) de vitamină D este activitatea dată de 0,25 μg de preparat standard internațional de vitamină D_3 cristalizată, care are următoarele proprietăți : punctul de topire 87—89°C, $\alpha_D = +110°$ (etanol), $E_1^{1\%}$ cm. 260 nm=490 (etanol) (corespunde cu coeficientul de extincție moleculară 18 800).

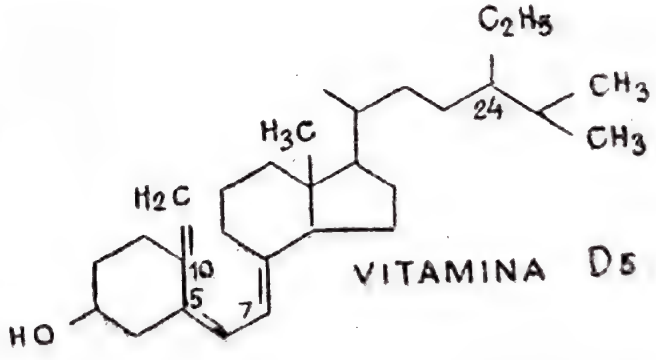
2.6. Vitamina D_4

Această vitamină a fost denumită dehidroergocalciferol sau dihidro-vitamina D_2.

Vitamina D_4 se obține prin iradierea provitaminei 22-dehidroergosterol. Din punct de vedere structural, diferă de vitamina D_2 prin lipsa dublei legături din lanțul lateral ; are 3 duble legături în ciclul B, iar în catena laterală posedă două grupări metil la C_{21} și C_{24}.

Vitamina D_4 este cristalină, cu punct de topire 180°C, α_D/+89,3°.





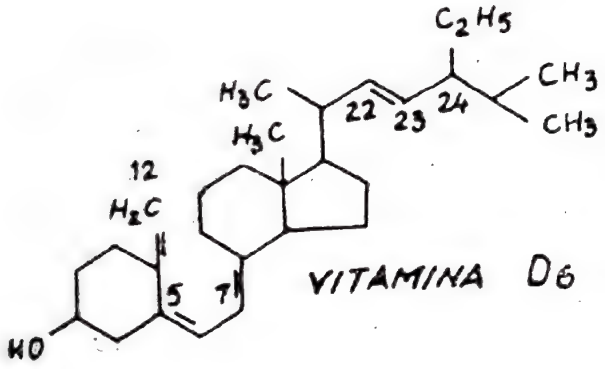
2.7. Vitamina D_5

Se mai numește și sitocalciferol ($C_{29}H_{47}OH$) și provine prin iradierea 7-dihidrositosterolului. Se caracterizează prin prezența grupării etil la C_{24}, catena laterală neavînd legături duble. Are absorbția maximă

la 265 nm. Se prezintă sub formă cristalină cu p.t. 144 — 145°C, $\alpha_D = -116°$ în cloroform.

2.8. Vitaminele D_6 și D_7

Vitamina D_6 se mai numește stigmacalciferol ($C_{29}H_{45}OH$), provine prin iradierea provitaminei 7-dehidrostigmasterol. Are absorbția maximă la 265 nm, gruparea etil la C_{24}, iar în poziția 22 posedă o legătură dublă ; de asemenea, ciclul B are 3 duble legături conjugate în pozițiile 5, 7, 10.



Vitamina D_6 se găsește sub formă de cristale cu p.t. 154°C și deviază planul luminii polarizate la —113,15° în benzen.

Se cunoaște și vitamina D_7 ($C_{28}H_{45}OH$), care are mai multă importanță teoretică decît terapeutică. Se obține din provitamina 7-dehidrocampesterol.

2.9. Corelația structură-activitate fiziologică

Cercetările (7) au arătat că acțiunea fiziologică a vitaminelor D este în strînsă legătură cu tipul și lungimea lanțului lateral.

Substituirea unui grup etil la C_{24}, ca de exemplu în 7-dehidrostigmasterol sau în 7-dihidro-β-sitosterol, duce prin fotoliză la compuși care au activitate fiziologică coborîtă. De exemplu, vitamina D_6 este foarte puțin activă, cu toate că are catena analogă cu aceea a vitaminei D_2. De asemenea, vitamina D_4 are acțiune mult mai mică decît vitamina D_2, care se deosebește doar prin absența legăturii nesaturate în catena laterală.

Structura ciclurilor, care este aceeași la toate vitaminele D, le imprimă acțiunea comună antirahitică ; dacă oxidrilul de la C_3 este esterificat, ele devin inactive, pierzîndu-și proprietatea antirahitică.

În afară de legătura care există între structura și activitatea vitaminică, acțiunea fiziologică mai depinde și de specia animală. De exemplu, colecalciferolul (D_3) este de 25 de ori mai activ la puii de găină decît ergocalciferolul (D_2) și de două ori mai puțin activ la șobolani decît ergocalciferolul.

De asemenea, dihidrocalciferolul (D_4) este de 10 ori mai puțin activ la șobolani, decît ergocalciferolul (D_2) și puțin mai activ la puii de găină ; la șobolani, sitocalciferolul (D_5) este de 20 de ori mai puțin activ decît ergocalciferolul.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă la animale acțiunea fiziologică a vitaminelor diferă după specie, la om terapeutica a arătat că acțiunea calciferolului și a ergocalciferolului pare echivalentă.

O unitate internațională (U.I.) de activitate a vitaminelor D corespunde la 0,025 μg de vitamină D_3 cristalizată ; 1 mg vitamină D_2 sau D_3 corespunde la 40 000 U.I.

2.10. Metodele de dozare a vitaminelor D

2.10.1. **Metode biologice.** Dintre metodele utilizate la dozarea vitaminelor D, congresele internaționale au acordat prioritate metodelor biologice, care trebuie să se efectueze numai pe șobolani. La început a fost folosit și puiul de găină, dar fiindcă s-a văzut că vitaminele D_2 și D_3 sînt mai puțin active la pui, dar la fel de active la șobolan ca și la om, s-a luat, ca animal standard biologic, șobolanul ; lucrîndu-se numai pe acest animal, se pot exprima rezultate în U.I. (28, 29). Șobolanii de o anumită vîrstă și greutate sînt supuși unui regim de carență în vitamina D, ce comportă o serie de factori care nu trebuie neglijați.

Regimul rahitogen conține toate substanțele necesare pentru alimentarea cît mai completă a animalului și deci, toate vitaminele, afară de vitamina D, iar raportul Ca/P să fie mai mare ca 4.

Cercetările (14) au stabilit (13) că modificarea raportului Ca/P, chiar în prezența vitaminei D, poate produce leziuni rahitice. S-a observat că, dacă raportul Ca/P este de 2, nu se obține rahitism chiar dacă vitamina D lipsește din hrana animalelor. Dacă raportul Ca/P este cuprins între 3,5 și 10, leziunile rahitice sînt cu atît mai pronunțate, cu cît lipsește din hrană vitamina D. S-a mai observat (15) că, variind raportul Ca/P, variază, de asemenea, și dozele de vitamină D utile vindecării rahitismului.

Dintre regimurile recomandate pentru obținerea rahitismului la aceste animale, redăm regimul Stecubock-Black, care are raportul Ca/P aproximativ 5 (Ca = 1,20 ; P = 0,25): făină de porumb 76 g %, tărîțe de grîu (gluten) 20 g %, $CaCO_3$ = 3 g %, NaCl = 1 g %. Tărîțele de grîu sînt supuse extracției cu ajutorul unui amestec de alcool și eter, timp de 24 h, în aparat Soxhlet.

Cantitatea de fosfor poate varia în tărîțele de grîu (1,21—1,78 %), de aceea se impune ca înainte de administrarea regimului să se dozeze fosforul din tărîțele de grîu și făina de porumb. Fosforul din făina de porumb este în cantitate foarte mică (0,11—0,32 %) și s-a observat că aceste limite sînt aproape constante.

Vitaminele D pot apare prin iradierea provitaminelor ; de aceea, în afară de regimul care trebuie administrat animalelor, este necesar să se țină seama de posibilitatea transformării provitaminelor, din pielea animalelor, în vitamina D.

Scanned with OKEN Scanner

În acest scop, animalele trebuie ferite de lumină în tot timpul determinării. Autorii (14) recomandă să se întrebuințeze numai animalele provenite din generații menținute în camere întunecoase. De asemenea, se recomandă ca, înainte de a se administra regimul de carență, timp de 5 zile, să se dea animalelor regim normal, combinat cu regim carențat. În asemenea condiții, rahitismul se instalează în circa 30 zile.

Animalele supuse regimului rahitogen sînt apoi tratate cu vitamina D, urmărindu-se recalcifierea.

2.10.1.1. *Testul bazat pe modificările minerale din os.* Se stabilesc cantitățile de substanță minerală fixată în țesutul osos, prin determinarea procentului de cenușă față de osul uscat și degresat. În acest procedeu, se administrează doze variate din preparatul care conține vitamina D, precum și preparatul standard (0,1—0,2 U. I.). În a 30-a zi se sacrifică animalele și se recoltează oasele labei ; se extrag grăsimile cu amestec de alcool și eter, după care acestea se usucă. Se cîntăresc și se notează greutatea acestora pentru fiecare animal. Oasele sînt supuse calcinării, stabilindu-se procentul de cenușă în raport cu greutatea oaselor uscate și degresate. Se fac mediile acestor procente pe lot, calculîndu-se raportul de activitate între proba de cercetat și proba standard. Pentru fiecare doză folosită se utilizează 10 șobolani în greutate de 40—50 g. Rezultatele sînt interpretate grafic.

2.10.1.2. *Testul cu nitrat de argint sau „Line-test".* Acest test se bazează pe determinarea recalcifierii oaselor prin ținerea lor în soluția de nitrat de argint 2%, timp de 1 minut, după care sînt spălate cu apă distilată și supuse luminii solare pînă apare o colorație neagră, datorită depunerii argintului coloidal în părțile calcificate. Interpretarea rezultatelor se face conform unei scări propuse de Dyer. Această scară cuprinde în partea de sus radiusul și în partea de jos cubitusul. Fiecare imagine poartă un număr (între 0—6), care arată gradul de calcifiere apreciat după precipitarea argintului și mărimea spațiului epifizar. Oasele din experiment, care au diferite grade de calcificare, se compară cu cele din tabel. Fiecare os primește o notă, care este cifra osului din tabel, căruia îi seamănă ; în raport cu aceasta se stabilește gradul de vindecare, după Dyer.

2.10.1.3. *Testul radiologic* (14, 15, 16, 17) este considerat ca fiind cel mai precis, ușor de efectuat și cel mai întrebuințat. Interpretarea calcifierii oaselor se face radiografic și este, în principiu, asemănătoare cu *Line-test.*

Gradul de vindecare este interpretat, pentru fiecare animal în parte, prin compararea radiografiilor obținute la animalele în experiență, cu cele reprezentate în scara propusă de Bourdillon F.

Scara reprezintă notarea de la 1 la 12 a gradului de vindecare, începînd de la vindecările complete. S-a dovedit că gradele acestei scări

sînt proporționale cu logaritmul dozelor ; o dublare și o înjumătățire a dozei duc la o mărire sau micșorare a gradului de scară cu 2, ceea ce corespunde unei măriri a dozelor cu log. 2. În această metodă sînt radiografiate numai articulațiile.

2.10.2. **Metode chimice.** Dintre reacțiile de identificare chimică menționăm :

2.10.2.1. *Reacția cu triclorură de stibiu*[111]. Vitaminele D dau cu $SbCl_3$ (soluție saturată) o colorație galbenă colorimetrabilă. Reacția este sensibilă pentru cantități de 0,02—0,04 mg. Aceeași colorație o dă și tahisterolul, dar cu absorbția maximă la altă lungime de undă.

2.10.2.2. *Reacția cu clorură de aluminiu.* Vitaminele D în soluție benzenică dau cu $AlCl_3$ (soluție alcoolică), în prezența pirogalului, la cald, o colorație violetă. Reacția este specifică numai pentru vitaminele pure, întrucît și tahisterolii și suprasterolii dau aceeași colorație, dar de intensitate mult mai mică, fapt pentru care nu se recomandă să fie folosite în soluțiile uleioase și preparatele cu vitamină D (38).

2.10.2.3. *Alte metode* constau în cromatografierea pe hîrtie Whatman nr. 2 (11), pe coloană cu alumină, în strat subțire și în faza gazoasă (19).

Farmacopeea română (20) prevede ca metodă de identificare pentru vitamina D—medicament, înfiolată sub azot, următoarele reacții :

— vitamina D (0,05 g) se solvă în 1 ml $CHCl_3$, se tratează cu o soluție de $SbCl_3$, 4 ml ; apare o colorație galben-portocalie ;

— aceeași cantitate de substanță dizolvată în 5 ml $CHCl_3$ se tratează cu 2 ml anhidridă acetică și 5 pic. H_2SO_4. Apare o colorație roșie, care trece repede în violet, albastru și apoi verde ;

— de asemenea, substanța se poate solvi în benzen și se tratează cu 1 ml furfurol (soluție benzenică) și 5 ml acid tricloracetic 85%, în benzen. Acest amestec încălzit pe baia de apă fierbinte, timp de 1 minut, duce la apariția unei coloratii roz-violet, stabilă și după răcire. Această reacție deosebește vitamina D de ergosterol.

2.10.3. **Metode fizice.** Ca metodă fizică se întrebuințează metoda spectrofotometrică, prin măsurarea intensității absorbției în ultraviolet. Se întrebuințează numai pentru vitaminele pure și prezintă un maxim la 265 nm.

2.11. Sursele și acțiunea fiziologică a vitaminelor D

2.11.1. **Sursele vitaminelor D.** Omul, ca și mamiferele, obține cantitățile de vitamină D necesare organismului din mediul extern, ca și din mediul intern ; prin alimente, obține vitaminele de origine animală și vegetală, cît și provitaminele.

Alimentația vegetală aduce o cantitate foarte mică de vitamina D. De asemenea, într-o proporție mai mare decît cea admisă prin vegetație,

vitamina D ia naștere sub influența razelor solare, la nivelul tegumentelor, din provitamina 7-dehidrocolesterol.

După cum se constată din tabelul 22, o cantitate apreciabilă de vitamină D se găsește în ficat și în carnea peștilor marini, la care provine din transformarea provitaminelor, care se găsesc în pielea acestora, sub influența radiațiilor ultraviolete. Provitaminele provin din planctonul și algele marine, care formează hrana acestora (21); peștii mici formează hrana peștilor răpitori.

La mamifere, vitaminele D provin, pe de o parte, prin acțiunea razelor mitogenetice (radiații care iau naștere în țesuturile în creștere) asupra provitaminelor sau prin acțiunea enzimelor de la nivelul mucoasei intestinale, care acționează asupra colesterolului, transformîndu-l în provitamină (dihidrocolesterol), precum și prin acțiunea razelor ultraviolete asupra provitaminelor 7-dehidrocolesterol, de la nivelul pielii.

Tabelul 22

Conținutul în procente în vitamina D a unor alimente (21)

Alimentul	U/M	Cantitatea
Ciuperci	γ	1,2—3,1
Unt de cacao	mg	0,75
Ulei de măsline		0
Legume verzi		0
Margarină		0
Pești marini (după specie)	γ	1,25—25
Ulei de ficat de ton	mg	75
Ulei de ficat de morun	mg	0,375
Ou de găină, vara (gălbenuș)	γ	9,756
Ou de găină, iarna (gălbenuș)	γ	3,5
Ou de găină (albuș)		0
Lapte uman (vara)	γ	0,15
Lapte uman (iarna)	γ	0,14
Lapte de vacă (vara)	γ	0,06—0,09
Lapte de vacă (iarna)	γ	0,04—0,07
Unt de vacă (vara)	γ	1,32
Unt de vacă (iarna)	γ	0,2
Smîntînă	γ	1,25

La păsări se crede că radiațiile ultraviolete asupra provitaminelor au loc la nivelul suprafeței penelor unse cu grăsime. Păsările, cînd își ciugulesc penele, scot ulei din glandele acestora și-l răspîndesc peste pene, unde, expus la razele solare și deci activat, este absorbit de piele sau ciugulit și mîncat de păsări. Îndepărtîndu-se glandele penelor, s-a împiedicat orice efect antirahitic al ultravioletelor asupra păsărilor, excepțînd iradierea picioarelor.

Scanned with OKEN Scanner

2.11.2. **Necesarul şi resorbţia vitaminelor D.** Necesităţile generale ale organismelor în vitamină D depind de următorii factori: vîrsta şi perioada de creştere a organismului, sexul (tabelul 23), aportul alimentelor (tabelul 24) de: provitamine D, glucide, lipide, proteine, de raportul Ca/P din mineralele alimentare, de biosinteza vitaminelor D din epidermă, de starea fiziopatologică a organismului (nefrită, ciroză hepatică, colite etc.), precum şi de medicamentele administrate care produc inducţie enzimatică, ce impun un aport crescut de vitamine D, întrucît acestea (fenitoina, fenobarbitalul, ol. vaselină etc.) măresc degradarea şi excreţia vitaminelor (22).

Tabelul 23

Necesarul zilnic de vitamină D, în funcţie de vîrstă (23)

Vîrsta	Cantitatea în U.I.
Sugar prematur	1 200—1 400
Sugar la termen hrănit la sîn	100— 300
Sugar la termen hrănit artificial	300— 600
Copii 1—14 ani	300— 600
Adolescenţi 15—21 ani	300— 600
Adulţi	150— 300
Femei gravide	600— 800
Femei care alăptează	600— 800

Alimentele aduc în diferite proporţii vitaminele; la alcătuirea meniurilor, trebuie să se ţină seama şi de aportul vitaminic.

Tabelul 24

Vitamina D: % necesarul zilnic adus de 100 g alimente (după H. Gounelle, C. Marnay, modificat)

sub 10 %	între 10—25 %	între 25—50 %	peste 50 %
Lapte de vacă iarna 0,5 Lapte de vacă vara 1 Lapte iradiat 4 Unt iarna 7	Unt vara 16 %		
Carne 0 Stridii 1,6 Calcan 9	Morun 16 Ou întreg 23	Gălbenuş de ou iarna 46 %	Scrumbii de mare 100 % Heringi 100—300 % Gălbenuş vara 130 % Sardele 600 % Untură de peşte 2 800 %
Legume verzi 0 Fructe 0	Ciuperci 21		

Vitaminele D sînt resorbite la nivelul intestinului subțire din alimente în prezența bilei. D. Taylleur, cercetînd pe cîini cu fistule biliare, a observat că vitaminele D administrate oral la aceste animale se absorb numai dacă se administrează, concomitent, și săruri biliare. Alți cercetători, printre care C. Heymans (23), au confirmat aceste rezultate pe șobolani și cîini, menționînd, totodată, că și acizii administrați influențează absorbția vitaminelor D.

Unii autori (2) susțin că substanțele grase alimentare joacă un rol în resorbția vitaminelor D. Alții (23) afirmă că substanțele grase nu sînt esențiale pentru absorbția vitaminelor D, dovedind aceasta prin experimentări efectuate cu tablete ce conțineau calciferol fără grăsimi, administrate per os, la animale. Aceiași autori afirmă posibilitatea că vitaminele D urmează aceeași cale, ca și grăsimile, prin peretele intestinal. Dizolvarea vitaminei D într-o emulsie fină de grăsime ar ajuta, probabil, absorbția vitaminelor D ; argumentul ar fi analog cu cel de la vitamina A, cît și cu vitamina D dizolvată în lapte, care are mare valoare antirahitică la sugar . Cea mai mare cantitate de vitamină D este resorbită cu lapte, unt, ouă și pește ; restul alimentelor organismului animal conțin cantități mici de vitamină D.

Sugarul ia vitamina D din laptele matern (calciferol primit de sugar = 50—60 UI/zi), care la un regim obișnuit conține maximum 86 UI/l (1 UI=0,025 vit. D_2). În timpul verii, laptele matern este mai bogat în calciferol (10—50 UI %) decît iarna (3—5 UI %). Laptele de vacă, care conține aproape aceeași cantitate de vitamină D, poate preveni apariția rahitismului, dar această cantitate nu poate stimula creșterea sugarului sau a copilului, care are nevoie de 300—600 UI/zi. Cercetările clinice au arătat că și doza zilnică prea mare, de circa 2 000 UI, în loc să stimuleze creșterea, micșorează viteza ei.

Observațiile lui J. Embleton și J. Collinge (24) arată că, atunci cînd dieta maternă este îmbogățită în vitamina D, îi face pe sugari să reziste la dieta rahitogenă și, în plus, le conferă acestora o rezistență timp de 4 luni, după ce s-a înlocuit dieta cu una deficitară. Cercetări experimentale (25) au demonstrat că sîngele vițeilor nou-născuți conține circa jumătate, pînă la 1/4 din valoarea vitaminei D din sîngele matern. Valorile vitaminei D variau în funcție de anotimp : la mamă, în sînge, de la 79 UI/100 ml iarna, iar 340 UI/100 ml la începutul toamnei, iar la viței de la 46 UI/100 ml iarna, la 111 UI/100 ml la început de toamnă, cu înmagazinări în ficat, de la 0,9—0,21 UI/g. De asemenea, W. Heymann arată că țesuturile diferitelor organe din corp înmagazinează vitamina D în timp diferit după administrare.

Sînt o serie de factori care împiedică posibilitatea de resorbție a intestinului ; dintre aceștia amintim unele medicamente, ca și starea patologică a mucoasei intestinale. Dintre medicamente se menționează

uleiul de vaselină, care este administrat în cazuri de constipație la om și animale, și care duce la apariția rahitismului la tineret, cu toate că alimentele lor conțin vitamina D. Se crede că apare o tulburare la acest nivel în resorbția provitaminelor, datorată prezenței uleiului de vaselină.

O serie de cercetători (27, 28), care au efectuat experiențe pe șobolani, au arătat că, dacă acestora li s-a administrat hrană nerahitogenă și, totodată, ulei de vaselină în cantități corespunzătoare, precum și omului în caz de constipație, a fost necesară o cantitate de 5 ori mai mare de vitamină D, pentru a contracara împiedicarea absorbției acesteia de către uleiul de vaselină. De asemenea, sînt autori care menționează că acțiunea antirahitică a iradiației este redusă atunci cînd uleiul de parafină (vaselină) a fost administrat în hrană.

Față de această situație se recomandă ca bolnavii cu constipație să nu folosească zilnic ulei de parafină după prînzuri.

Vitaminele D din alimente se găsesc sub formă esterificată, ca și în unele medicamente, și acestea ajung la nivelul mucoasei intestinale după circa 2—3 ore de la administrare, unde sînt desesterificate, pentru a putea fi resorbite ; ele au putut fi identificate (29) în celulele mucoasei intestinale ; la acest nivel se transformă parțial în diverși metaboliți.

În cazul stărilor patologice ale intestinului, resorbția este tulburată atît pentru alimente, cît și pentru vitamina D ; exemplu : în diferite infecții, colite etc. Aceste stări pot duce la rahitism, deoarece vitamina D nu poate fi resorbită sau se resoarbe în cantități foarte mici.

În condițiile fiziologice normale, vitaminele D de la nivelul mucoasei intestinale sînt transportate prin circulația limfatică în sînge, unde se găsesc atașate de α-globuline (64—66).

G. Morgan, urmărind localizarea serologică a vitaminei D prin electroforeza pe gel de amidon (fig. 11), la pacienții care au primit doze mari de vitamină D, a găsit că activitatea antirahitică este asociată, în principal, cu α_1 și α_2-globuline, dar și cu regiunea dintre albumine și α_1-globuline.

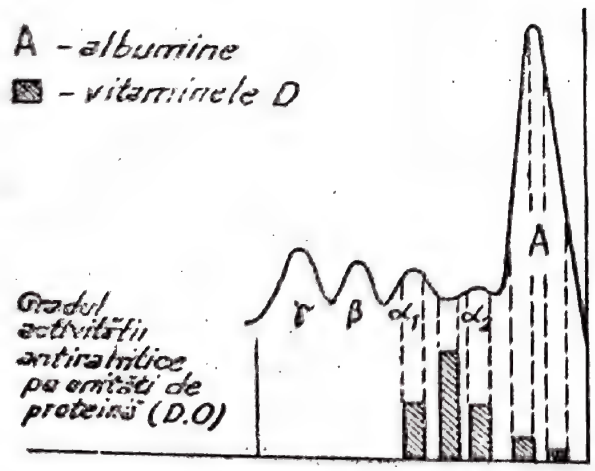


Fig. 11 — Corelația dintre activitateaa antirahitică și proteinele din ser.

De asemenea, A. Petersen (31) și H. Adams (32) susțin că vitamina D circulă în plasma sanguină umană sub formă de proteină de transport specifică. Faptul că este legată de aceste fracțiuni proteice, a dus la explicarea unor cazuri de rahitism la copiii născuți din mame care aveau valori normale de vitamină D în timpul sarcinii ; în aceste cazuri s-a

considerat că vitamina D nu a putut trece prin placentă din cauza mărimii moleculelor de α-globuline.

Vitaminele D, ajunse în sînge, la nivelul ficatului suferă un proces de esterificare cu acizii graşi, într-o proporţie de circa 10% (70—72). S-a demonstrat că la nivelul ficatului vitamina D_3 este hidrolizată în metabolitul 25-hidroxicolecalciferol (25-OH_3,-D3) (18, 34, 35, 36), care este forma majoră a vitaminei circulante în plasma sanguină (78, 79); de asemenea, la nivelul rinichiului, acesta este transformat în 1,25-dihidroxicolecalciferol (76, 80, 81) (1, 25-$OH)_2$-D_3).

R. Fraser şi E. Kodicek (33) au demonstrat că există un sistem de enzime localizat în membrana internă a mitocondriei, în rinichiul vertebratelor, care converteşte 25-hidroxicolecalciferolul în metabolitul său cel mai activ, 1,25-dihidroxicolecalciferol. Această reacţie se efectuează la nivelul mitocondriei şi poate fi inhibată de Ca^{++} (82); sistemul enzimatic cuprinde NADPH, o flavoproteină, o proteină cu Fe şi S şi cit. P_{450}.

Redăm în fig. 12 schema metabolismului intermediar al vitaminei D_3.

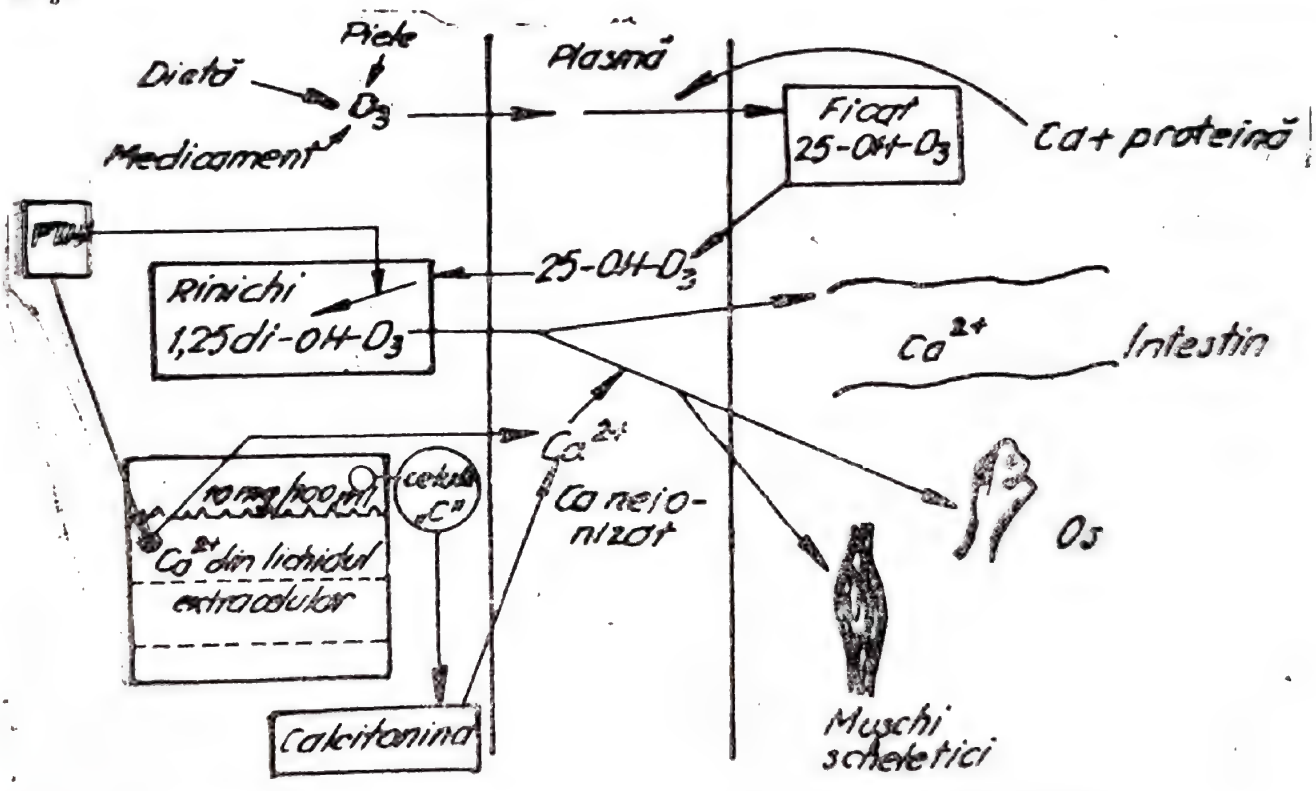


Fig. 12 — Influenţa vitaminei D_3 asupra metabolizării calciului.

M. Lawson (37) şi alţi autori (38) susţin că 1,25-dihidroxicolecalciferolul (1,25-$(OH)_2$-D_3) se găseşte în cantitatea cea mai mare în nucleii celulelor mucoasei intestinului subţire, iar în cantitatea cea mai mică, în sînge; de asemenea, T. Boyle (39) susţine că metabolitul 1,25-$(OH)_2$

Scanned with OKEN Scanner

-D_3 se mai găsește și în alte țesuturi: ficat, mușchi etc., într-o proporție ce variază în raport de conținutul de calciu din hrană. Pe măsură ce cresc concentrațiile de calciu din hrană și din ser peste limitele normale, cantitatea de 1,25-dihidroxicolecalciferol scade.

R. Haussler (40), ca și alți autori (41, 42), a demonstrat că 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-$(OH)_2$-D_3) este mult mai activ decît vitamina D_3 sau 25-hidroxicolecalciferolul (25-OH-D_3) în stimularea absorbției intestinale a calciului și în metabolizarea calciului osos. Viteza de acțiune a acestui metabolit este de aproape 30—40 de ori mai eficace, decît vitamina D_3 sau 25-OH-D_3, în stimularea transportului intestinal de calciu (42). (fig. 13).

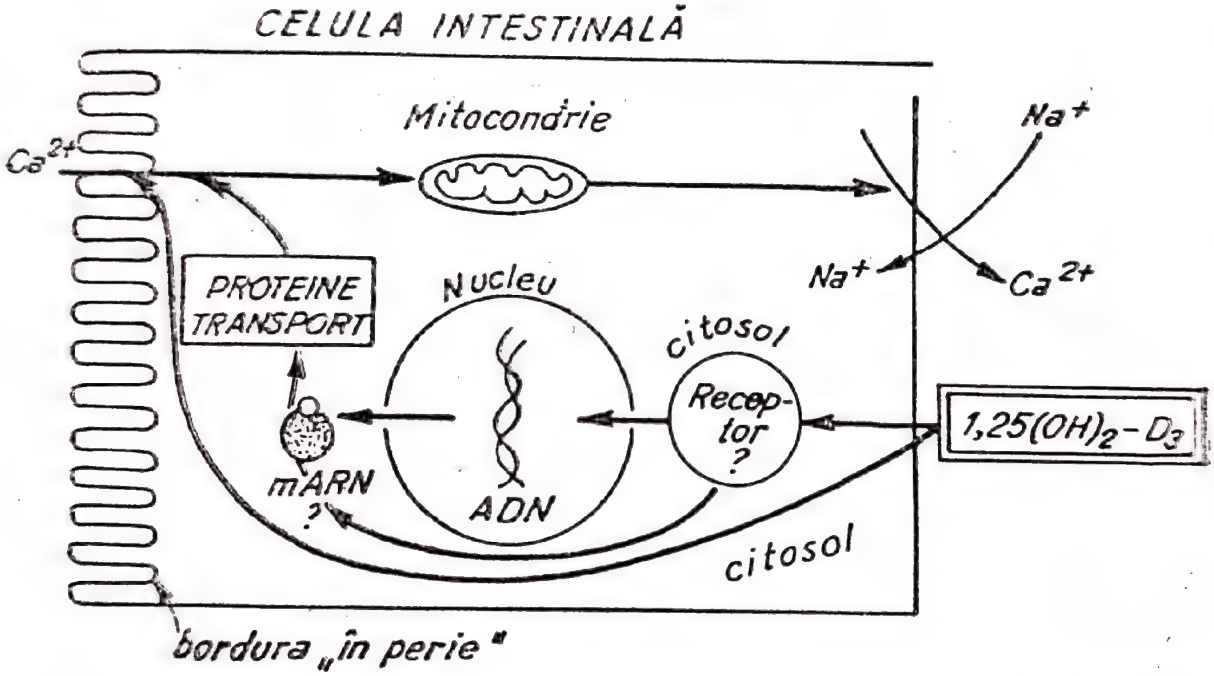


Fig. 13 — Acțiunea 1,25 — $(OH)_2$ — D_3 în absorbția și transportul calciului prin celulele intestinale (După H.F. De Luca).

Comparîndu-se eficacitatea antirahitică a 1,25 $(OH)_2$-D_3 cu aceea a 25-OH-D_3 și a vitaminei D_3, administrați pe cale intraperitoneală, H. F. De Luca și Y. Tanaka (43) susțin că 25-OH-D_3 a fost de 4 sau 5 ori mai eficace decît vitamina D_3, pe cînd 1,25-$(OH)_2$-D_3 a fost cu circa 5 ori mai eficace la șobolan, decît 25-OH-D_3, în prevenirea rahitismului. Y. Tanaka subliniază că 1,25-OH-D_3 este de 10 ori mai eficace decît vitamina D_3 în menținerea fosforului seric mineral, la animalele supuse unui regim sărac în fosfor; acest metabolit are aceeași acțiune ca și 25-OH-D_3 în menținerea calciului seric la șobolanii supuși unui regim hipocalcic.

S. Emitage și col. (44) emit ipoteza că 1,25-$(OH)_2$-D_3 ar acționa ca un hormon steroid, la nivelul transcripției genei.

Scanned with OKEN Scanner

T. Boyle și col. (45) menționează existența și a metabolitului 24—25-dihidroxivitamina D_3, relatînd că acesta produce o creștere marcată, în transportul intestinal, de calciu, la șobolanii deficienți în vitamina D, iar nefrectomia sau o dietă bogată în calciu întrerupe stimularea transportului intestinal de calciu de către 24—25-dihidroxivitamina D_3. Tot acești autori remarcă faptul că acest metabolit facilitează absorbția intestinală de calciu, fără a stimula mobilizarea calciului în oase.

În 1963, H. Wasserman (46) a relatat că în intestinul de găină se formează un factor dependent de vitamina D, iar natura sa proteică, ca și activitatea calcipexică, au fost stabilite în 1966. De la această dată, „proteina calcipexică" (Ca B P=calcium-bindind-protein) a fost izolată, purificată și i s-a determinat unele proprietăți. Proteina CaBP se găsește, în concentrații descrescînde, de-a lungul intestinului (47) în colon, al cărui țesut este considerat ca un organ țintă al vitaminei D. Studiul absorbției Ca la suprafața mucoasei intestinale a arătat că există o corelație egală între momentul apariției CaBP și creșterea transportului de calciu. De asemenea, s-a observat, cu ajutorul leucinei marcate, că încorporarea acesteia în CaBP se produce cu multe ore înainte de a se observa o creștere în transportul de calciu.

Se consideră că vitamina D stimulează sinteza CaBP din intestin ; la fel ca și metabolitul său cel mai activ, 1,25-dihidroxicolecalciferol, care crește absorbția calciului, întovărășită de apariția CaBP în aceeași perioadă. CaBP joacă un rol important în procesul de absorbție al calciului, în care vitamina D este mediator.

O serie de cercetări menționează că CaBP s-a găsit nu numai în mucoasa intestinală a găinilor, ci și în rinichi, ficat, tiroidă, creier la șobolani, cobai, hamsteri, cîini, maimuțe, vaci (48), porci, cai și oameni (49) ca și în oviductul găinilor, cu rol probabil în calcifierea cojii oului.

Proteina calcipexică (CaBP) a fost găsită și în rinichi, ca și în uterul găinilor, dar nu important în oase.

Unii cercetători (Willson și col., 1977 ; H. F. De Luca, 1979) au observat, cu ajutorul aminoacizilor marcați, că, după administrarea vitaminei D metabolic activată, se sintetizează o proteină (gr. mol. 45 000) înaintea transportului de Ca^{2+} din intestin și că, după dispariția foarte accentuată a acesteia, se formează, sincronizat cu transportul Ca^{2+} din intestin, o proteină nouă (gr. mol. 84 000), a cărei cantitate se micșorează în raport cu scăderea Ca^{2+} din intestin.

Vitamina D influențează absorbția la nivelul intestinului a Ca, Sr, Ba și a altor cationi, precum și a fosfaților (51, 52). De asemenea, vitamina D stimulează creșterea enzimei adenozintrifosfataza, care este influențată și de ionii de Ca în celulele intestinale, determinînd, totodată, și creșterea fosfatazei alcaline din intestin. Tot la nivelul celulelor intestinale, vitamina D acționează asupra acizilor grași, formînd fosfolipide și esteri ai colesterolului.

Scanned with OKEN Scanner

O serie de cercetări (53) menționează, de asemenea, că scheletul și rinichii sînt organele efectoare ale vitaminei D.

2.11.3. **Înmagazinarea vitaminelor D în organism.** În raport de anotimp, sîngele animalului, ca și al omului, conține cantități diferite de vitamine D. Unii autori (23) menționează că perioadele de timp pentru înmagazinarea în ficat sînt mai scurte. Timpul de înmagazinare diferă între 1 și 10—12 săptămîni, iar unele organe ca : ficatul, rinichiul, plămînul reține vitanina D un timp mai îndelungat. Sînt lucrări care afirmă că cea mai mică cantitate de vitamină D este fixată în mușchiul cardiac.

J. Warkany și E. Mabon (54) arată că nivelul normal de vitamină D în sîngele adultului și al copilului variază de la 66 la 165 UI/100 ml ser, în funcție de anotimp. S-a mai observat că, chiar atunci cînd se administrează cantități mari la adulți (5 000—500 000 zilnic), cantitatea de vitamină D în sînge a crescut (9 000—13 000 UI/m100 ml ser). Dintre organele animalelor, ficatul peștilor formează un rezervor important de depozitare a vitaminei D.

De la administrarea vitaminei D și pînă la înmagazinarea ei în organele omului și animalelor, perioadele de timp sînt diferite ; de exemplu, la iepuri (54) timpul de înmagazinare socotit în zile este următorul : în creier 4—7 ; în sînge 30—40 ; în intestinul subțire 35—50 ; în intestinul gros 40—55 ; în plămîni și rinichi 40—60 ; în ficat 50—80 ; în plasmă 55—90 de zile.

Enescu L. (55) susține că vitaminele D se concentrează și în rinichi, în porțiunea proximală a tubilor contorți, adică în zona unde procesele de absorbție sînt cele mai active.

Vitaminele D se înmagazinează în egală măsură în : mitocondrii, microzomi, nuclei, cu preponderență în fracțiunea microzomală, în special pe membranele lor. În ficat, vitaminele D, ca și produșii lor de hidroxilare pot suferi procese active (25-hidroxicalciferol) și de esterificare (cu acid sulfuric sau glucoronic) sau de conjugare cu glicina sau taurina.

În organismul animal, vitamina D se găsește sub formă de vitamină D_3 (colecalciferol), care provine din 7-dehidroergosterol, formînd provitamina de origine animală cea mai răspîndită, considerată vitamina D naturală.

În raport cu hrana animalului, în organismul animal se găsesc diferite cantități de vitamină D_2 (calciferol) ; de exemplu, dacă dieta animalului are conținut mare de drojdie de bere iradiată, atunci și vitamina D_2 se va găsi într-o cantitate mai mare (56) și, deci, laptele provenit de la aceste animale va conține vitamină D_2, iar laptele ingerat de om va face ca proporția de vitamină D_2 în organismul lui să crească față de vitamina D_3 ; vitamina D_2 are aproape aceeași activitate fiziologică pentru om ca și vitamina D_3.

Scanned with OKEN Scanner

E. Kodicek, folosind vitamina D_2 marcată (C^{14}), a constatat că aceasta se depozitează mai întîi în ficat, apoi în oase, intestin, rinichi, sînge, mușchiul inimii, mușchii striați. Depozitarea în organe este utilă pentru o perioadă de timp care variază între 1 și 12—14 săptămîni.

2.11.4. Rolul vitaminelor D în metabolism. O serie de lucrări (57 58) au demonstrat că vitaminele D intervin în metabolismul mineral: **a.** în absorbția calciului la nivelul intestinului subțire, prin sporirea permeabilității membranelor celulare, avînd efecte asemănătoare cu antibioticele polienice (Nistatin, Amfotercin B) (59, 60, 61). Prezența vitaminei D_2 facilitează absorbția Ca^{++}, administrat sub formă de oxalat de calciu. Au demonstrat acest fapt experiențele efectuate atît cu calciu stabil cît și cu calciu izotopic; **b.** intervin în plasmă la nivelul transcrierii mesajului genetic de la ADN nuclear la ARN, în procesul biosintezei proteinei, care leagă și transportă ionii de Ca în lichidele biologice (CaBP).

Efectul vitaminei D asupra absorbției de calciu din tractul digestiv a fost demonstrat la șobolani și găini. La șobolanul rahitic vitamina D a crescut absorbția de calciu radioactiv de la nivelul intestinului, cînd acesta a fost administrat pe cale orală.

Vitamina D administrată per os la găini a favorizat absorbția calciului de la nivelul intestinului, precum și depozitarea calciului în oase (12).

Enescu L. (55) menționează că vitaminele D măresc absorbția intestinală a calciului în regiunea duodeno-jejunală, de la 23% la 48%, precum și sinteza în celulele intestinale a proteinei care fixează calciul. De asemenea, în mitocondriile celulare, vitamina D stimulează depunerea de calciu, iar în citoplasmă menține la valori normale ionii de Ca^{2++}; vitamina D activează adenilciclaza și AMPc, care sînt necesare la sinteza proteinei specifice de transport a calciului prin membranele celulare.

Există dovezi că vitaminele D, împreună cu hormonul paratiroidian (PTH), promovează absorbția calciului alimentar din intestinul gros (63) (fig. 12).

Vitaminele D stimulează activitatea osteoblastelor în fixarea calciului și micșorează oxidarea citratului, favorizînd concentrarea acestuia în lichidele interstițiale ale osului.

Vitaminele D acționează asupra eliberării de ioni de calciu din mitocondrii.

c. Conținutul fosforului în ser variază în raport cu cantitatea de vitamină D din alimente. Administrarea de vitamină D scade excreția fosforului. Influența vitaminei D asupra metabolismului fosfatului a fost studiată prin administrarea orală de fosfor radioactiv la șobolani.

Scanned with OKEN Scanner

Efectul cel mai pronunțat al vitaminei D a fost evidențiat în oase, observîndu-se că vitamina D are rol important în procesul de osificare prin convertirea fosforului organic (64) în fosfor anorganic, mobilizîndu-l din țesuturi și favorizînd formarea complexului fosfo-calcic.

Vitaminele D în doze normale măresc activitatea fosfatazei alcaline în zonele de creștere ale oaselor (epifize), asigurînd fixarea calciului și fosforului în oase, precum și în mitocondriile din ficat, rinichi și mucoasa intestinală.

Vitaminele D intervin în formarea normală a cartilajelor osoase, activează ATP-aza, în special în eritrocite, fapt ce explică în mare măsură efectul vitaminelor D asupra sistemuluui osos, rinichiului și intestinului.

B. Jeanrenaud (65) susține că vitamina D influențează asupra absorbției fosforului numai cînd acesta este legat de calciu ; invers, absorbția fosforului scade, dacă scade absorbția calciului.

Vitamina D exercită o acțiune bivalentă asupra excreției de fosfat în urină. În doze terapeutice și de menținere a procentului fiziologic de vitamine D, ea crește reabsorbția fosfaților în tubii urinari, însă în hipervitaminoza D și în deficiența vitaminei D, această reabsorbție este scăzută.

d. Vitamina D are acțiune directă asupra activității tubilor renali, avînd în vedere că, la copiii cu carență de vitamină D, reabsorbția tubulară a aminoacizilor este scăzută, administrarea de vitamină D înlăturînd această stare patologică.

Vitamina D_3, hidrolizată în ficat (25-OH-D_3), este apoi hidrolizată și în mitocondriile celulelor renale la 1,25-dihidroxicolecalciferol, care este metabolitul ce are activitate de 40 de ori mai mare, decît vitamina D_3, în stimularea transportului prin peretele intestinal al calciului. Acest metabolit intervine și în mobilizarea calciului din oase.

Variația calcemiei condiționează formarea metabolitului 1,25-dihidroxi-D_3. Hipocalcemia (sub 9 mg Ca/100 ml) determină o stimulare a secreției de parathormon, care fiind în exces inhibă resorbția de fosfat mineral de tubii renali, fapt ce determină stimularea biosintezei renale a metabolitului 1,25-dihidroxi-D_3, care mărește viteza de absorbție intestinală a calciului, corectînd hipocalcemia (fig. 12).

În condițiile unei hipercalcemii (peste 11 mg Ca/100 ml), procesul are loc invers; se inhibă formarea acestui metabolit vitaminic, reducîndu-se și absorbția intestinală a calciului.

La sugari, în cazurile de sarcoidoză, hipercalcemie idiopatică și carență de calciu, vitaminele D activează mai mult absorbția calciului decît la normali.

e. Vitaminele D favorizează absorbția fosfatului în mitocondrii.

Scanned with OKEN Scanner

f. Vitaminele D inhibă desfășurarea ciclului acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs) (fig. 14), împiedicînd transformarea citratului în izocitrat sub acțiunea aconitazei, fapt ce duce la acumularea de citrat în țesuturile în care acționează vitaminele D.

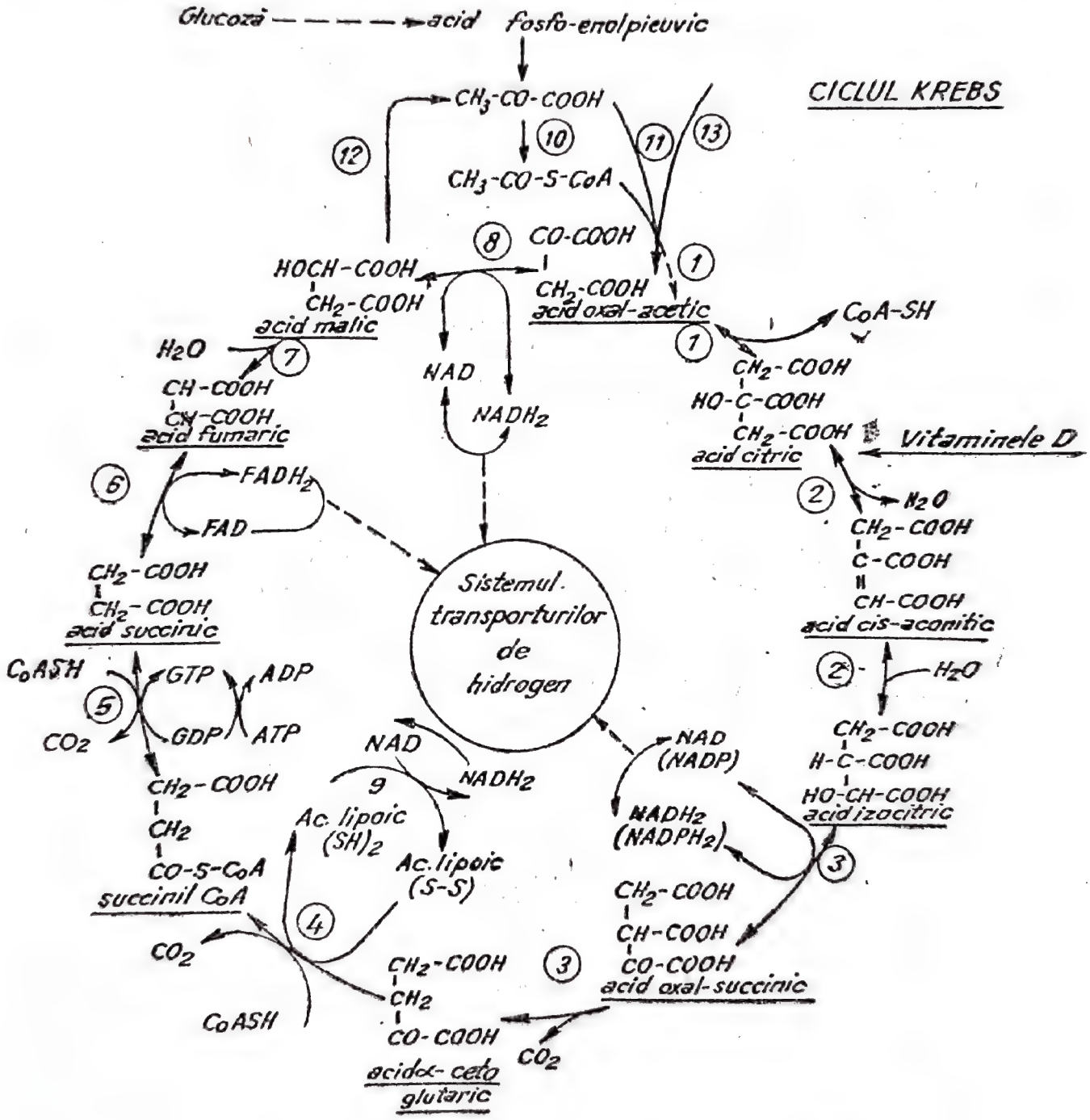


Fig. 14 — Ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs).

Inhibînd ciclul acizilor tricarboxilici, vitaminele D inhibă indirect generarea de ATP din țesuturi, întrucît prin ciclul Krebs se formează cea mai mare cantitate de ATP.

Scanned with OKEN Scanner

g. Vitaminele D corectează cantitatea de ATP din țesuturi (sînge, ficat, rinichi) și din stările patologice în care aceasta este scăzută (rahitism).

2.11.4.1. *Hipovitaminoza*

2.11.4.1.1. Rahitismul. Datorită unei alimentații sărace în vitaminele D, se ajunge la starea de hipovitaminoză care, într-o carență accentuată, se manifestă prin maladia denumită rahitism. Această boală apare la copii și la tineretul animal (cîini, miei, porci, pui etc.).

Cercetările pentru obținerea rahitismului experimental au demonstrat că, în afară de deficitul de vitamină D din organism, indiferent de natura lui, exogenă sau endogenă, se impune existența unui regim alimentar în care raportul Ca/P să fie superior cifrei 1,5 (după Mc. Collum, Randoin și Lecoq) sau inferior lui 1,5 (după Pappenheimer). Regimul rahitogen pentru animale, recomandat de Mc. Collum, are raportul Ca/P=4 (Ca = 1,20 ; P=0,30), pe cînd regimul recomandat de Steenbock-Black are raportul Ca/P aproximativ 5 (Ca=12,0 ; P=0,25). Raportul Ca/P în laptele matern este 2,2/1, spre deosebire de laptele de vacă, al cărui raport este de 1,2/1. Autorii compară eficiența utilizării diverselor săruri de calciu, de copiii în vîrstă de 1—6 ani, găsind că raportul Ca/P optim fiziologic este de 1 : 1 (66).

Lipsa vitaminei D, o alimentație în care Ca/P se găsește sub cel optim sau o alimentație săracă în calciu poate duce la rahitism. De asemenea, s-a demonstrat că sexul masculin este mai predispus acestei maladii.

Rahitismul se poate datora și unor cauze secundare, chiar atunci cînd vitamina D și raportul Ca/P sînt optime : dacă absorbția la nivelul mucoasei intestinale este dezechilibrată, ca, de exemplu, în maladiile steatoree, boli pancreatice, diferite boli hepatice, renale, boala celiacă, care se datorește imposibilității de resorbție a grăsimilor și deci, a vitaminelor liposolubile (A, D) ca și a calciului.

În starea patologică renală lipsesc enzimele „hidroxilaze" renale, care printr-un mecanism de hidroxilare transformă 25-hidroxicolecalciferolul în metabolitul activat 1,25-dihidroxicolecalciferolul (1,25-$(OH)_2$-D_3), care are proprietatea de a stimula absorbția calciului la nivelul intestinului ; în asemenea condiții, apare hipocalcemia (rahitism, osteomalacia), care nu cedează la administrarea de vitamină D ; în asemenea cazuri patologice, numai 1,25-$(OH)_2$-D_3 este eficient (fig. 12).

Hipovitaminoza D provoacă *leziuni osoase* prin trei procese :

a. prin demineralizare ; b. scade absorbția intestinală a calciului ; c. scăderea absorbției fosfaților, datorită formării fosfaților de calciu insolubili (hipofosfatemie) (fig. 15).

Produsul $Ca^{2+} \times PO_4^{3-}$ al plasmei scade, iar mineralizarea osului este perturbată.

Scanned with OKEN Scanner

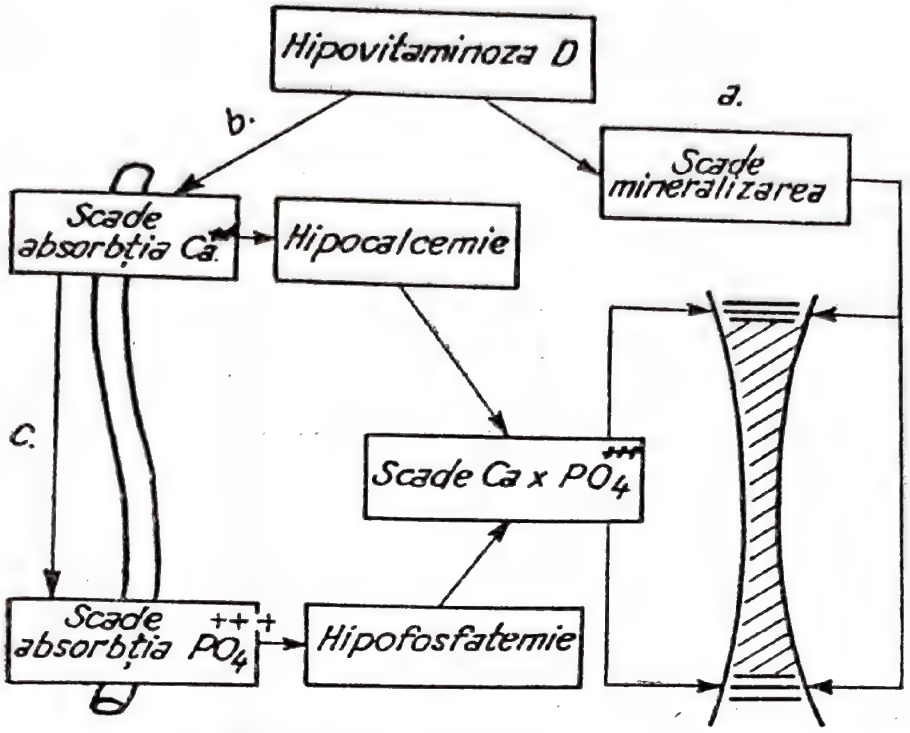


Fig. 15 — Mecanismul leziunilor osoase în rahitism.

Glandele paratiroide, în asemenea condiții, pot reacționa sau nu : dacă ele nu reacționează, atunci rahitismul îmbracă o formă ușoară ; dacă hipocalcemia existentă provoacă un răspuns al glandelor paratiroide, atunci se produce un rahitism mai sever. Glandele paratiroide tind să mărească calcemia printr-un proces de hiperostoză, care accentuează demineralizarea inițială a osului. Tot acest proces provoacă și o hiperfosfaturie ce determină sau accentuează hiperfosfatemia, care duce la o nouă diminuare a produsului $Ca^{2+} \times PO_4^{3-}$ plasmatic (fig. 15).

Rahitismul este o tulburare a mineralizării osului aflat în curs de creștere, care rezultă dintr-un dezechilibru dintre ritmul de formare al matricei osului și a cartilajului și ritmul depunerii sărurilor osoase în matrice. Consecințele sînt deficiența de minerale în os și acumularea din țesut osteoid, care este matrice necalcifiată. Datorită lipsei sărurilor de calciu, trabeculele de os nou sînt alcătuite exclusiv din substanță organică denumită osteoid. Osul vechi se subțiază datorită procesului de distrucție, înlăturîndu-se progresiv osul calcefiat, format înainte de apariția rahitismului și formarea osului nou lipsit de săruri de calciu. Apar modificări pregnante în oasele lungi pe cale de creștere, la joncțiunea dintre cartilaj și diafiză (fig. 16). Din regiunea diafizară capilarele proliferează, invadează cartilajul, înlocuind celulele cartilaginoase degenerate, iar osteoblaștii care însoțesc capilarul depozitează țesut osteoid, matricea organică a osului ; acestea mineralizează pe măsură ce

Scanned with OKEN Scanner

matricea de cartilaj se resoarbe. Grosimea osului este sporită prin activitatea osteoblaștilor de sub periost. Făcîndu-se o secțiune longitudinală în os, la delimitarea dintre cartilaj și os apare o linie dreaptă la osul fără rahitism ; la cel bolnav delimitarea precisă lipsește, formînd un desen neregulat, deoarece degenerarea cartilajului și calcifierea li s-a făcut inegal. Axul osului arată o rarefiere cu o opacitate mai accentuată la razele X (fig. 16, 17).

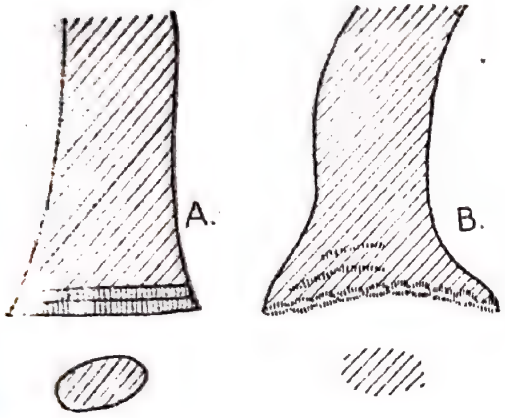


Fig. 16 — A. Extremitatea epifizară a unui os lung. Aspect normal. B. Extremitatea epifizară a unui os lung rahitic. Aspect de cupă cu lărgirea liniei epifizare. Nucleul de osificare cu contururi imprecise și cu densitate diminuată (țesut osteoid).

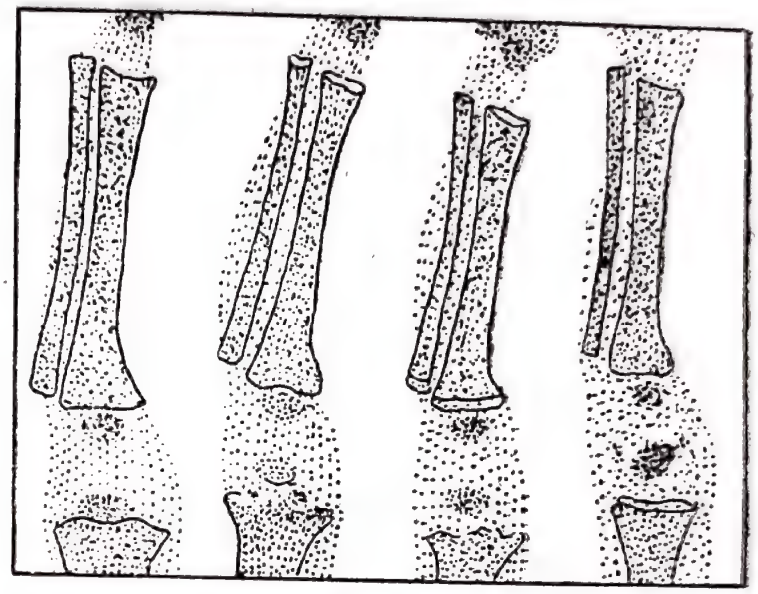


Fig. 17 — Oase rahitice înainte și după tratamentul cu vitaminele D.

În carența de vitamină D apar următoarele modificări în plasmă :

a. scăderea fosforului anorganic din plasmă, datorită unei pierderi de fosfat prin urină, care rezultă din tulburarea resorbției tubulare și, poate, dintr-o scădere a absorbției fosfatului din hrană ;

b. creșterea fosfatazei alcaline în plasmă este constantă în rahitism (67, 68) ; elementele care pun în libertate această enzimă în rahitism se crede că ar fi osteoblaștii, care proliferează în această maladie activitatea crescută a fosfatazei alcaline, indică o intensificare a metabolismului osos atît în demineralizarea osului (rahitism, osteomalacie, tuberculoză osoasă), cît și în procesul de osificare (consolidarea fracturilor osoase) ;

c. scade cantitativ ATP.

Rahitismul la om. Rahitismul este o boală a nou-născuților și a copilului, care apare frecvent în cazul unei alimentații sărace în vitamina D, datorate unei insuficiente expuneri la lumina solară, a unui raport Ca/P nefiziologic sau a unui regim alimentar neechilibrat.

Scanned with OKEN Scanner

Boala este mai frecventă la copiii supuși la condiții de viață necorespunzătoare, mai ales cei din mediul urban.

În producerea rahitismului la nou-născut, în afara lipsei de vitamine D și alterarea absorbției calciului, intervin și condițiile schimbului de calciu dintre mamă și făt în perioada prenatală și aportul insuficient, prin laptele matern, de ioni de Ca și P în perioada neonatală.

Cercetările au arătat că în ultimul trimestru fătul are nevoie pentru creștere de 5% din calciul plasmatic difuzabil și 10% din fosforul anorganic al mamei, pe oră (67). În primele 48 ore de la naștere nivelul calcemiei scade, iar al fosfatului plasmatic crește. Se crede că la naștere copilul prezintă o hipercalcemie. La copiii hrăniți cu biberonul, calciul plasmatic ionizat scade, apărînd fenomene de tetanie (69). Cercetările lui Dancaster P. și Jackson U. (69) au arătat apariția rahitismului la copiii hrăniți la sîn mai puțin de 3 luni.

La sugar, alimentația artificială este rahitogenă, prin excesul de lapte de vacă, orarul neregulat al supturilor. Digestia defectuoasă a produselor de lapte de vacă îngreunează absorbția calciului și creează un dezechilibru fosfo-calcic, care crește nevoia de vitamină D.

La copilul înțărcat, regimul alimentar este predominant glucidic, cu dulciuri, făinoase, pîine de cele mai multe ori în exces, ceea ce produce tulburări digestive. Se impune verificarea rației alimentare dacă aduce Ca și P în condiții satisfăcătoare și echilibrate. Făinoasele au raportul Ca/P=0,15, ceea ce este cu totul nesatisfăcător. Necesarul zilnic de Ca/P, în raport cu vîrsta, la copii, este: între 2—4 ani=600/700 mg ; 4—6 ani= 700/800 mg ; 6—10 ani = 800/1 000 mg.

G. Dunnigan, urmărind copiii rahitici mai mari de 5 ani, a arătat că alimentația săracă în calciu și vitamină D, ca și insuficienta expunere la soare au fost cauzele îmbolnăvirii acestora.

Examenul clinic. Copiii cu rahitism (fig. 18) prezintă o sensibilitate la palparea oaselor, întîrziere în creștere, evită poziția șezîndă, au greutate la mers, musculatura este hipotonă, priviri apatice, iar după vîrsta de 6—7 luni se remarcă și anomalii scheletice ca = picioare curbe (tibiile sub formă de paranteză), mătănii con-

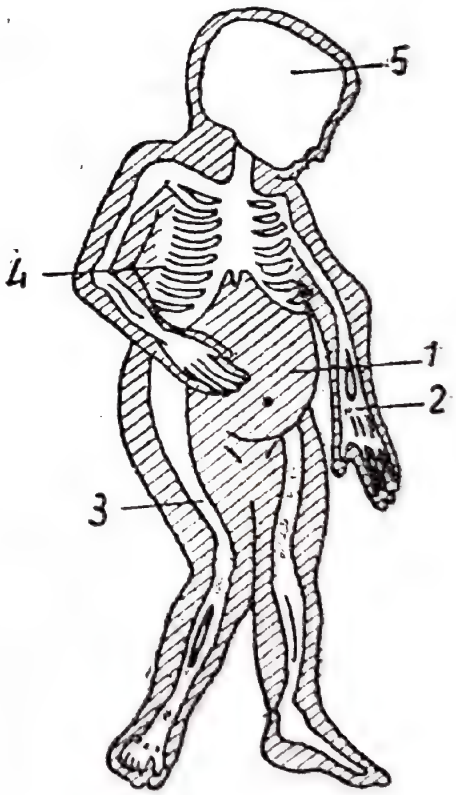


Fig. 18 — Copil rahitic (după I. Nicholasl). 1. Abdomen de batracian 2. Lărgirea epifizelor. 3. Curbura osului 4. Coaste mătănii-condro-costale 5. Craniu natiform ; frunte olimpică.

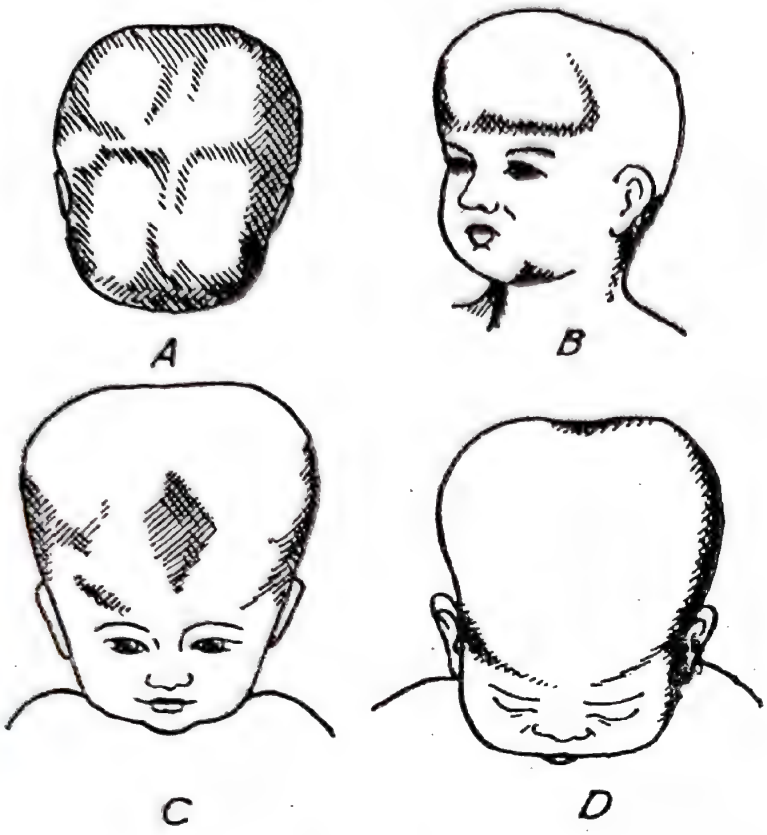


Fig. 19 — A. Craniu natiform B. Frunte olimpiană C. Fontanela mare larg deschisă D. Craniu plagiocefalic (copil de 5 luni) (după M. Lelong).

dro-costale (62), deformarea craniului cu frunte olimpică; de asemenea, fontanelele după 18 luni nu sînt închise și bolta craniană prezintă o bombare cu deformația „craniu natiform". La palparea craniului degetele se afundă dînd împresia că fisurează (68). Poate exista și o deformație secundară — craniu ovalar sau plagiocefalic, datorită greutății creierului la copilul care a fost ținut culcat numai pe aceeași parte (fig. 19).

Bolta palatină este ogivală, cu protruzia anterioară a osului incisiv ; primii incisivi apar după luna a 10-a, iar erupția dentară nu este terminată nici la 3 ani.

Mătăniile se întind în țesut osteoid la joncțiunea coastei cu cartilajul sau sînt evidente pe coastele 5, 6, 7. În cazuri grave, coastele pot fi împinse îndărăt, fără a se putea palpa mătăniile condro-costale.

Toracele este deformat prin ieșirea sternului în relief și îndepărtarea coastelor inferioare (68)—„torace în carenă" ; poate exista și o adîncire a ultimei piese a sternului, umflarea epifizelor și exagerarea curburii claviculelor, dînd aspectul de „torace în pîlnie" cu cifoscolioză și spate rotund, iar bazinul strîmtat (fig. 19).

Abdomenul poate fi destins datorită lipsei de tonus muscular și balonat, voluminos — „abdomen de batracian", datorită hidraților de carbon rezultați în urma unei diete greșite, precum și faptului că splina și ficatul sînt împinse în jos, întrucît toracele este deformat și mușchii abdominali hipotoni (fig. 18) (70).

Copiii pot prezenta constipație alternînd cu episoade diareice.

Membrele sînt afectate ultimele de boală. Brațele se deformează cînd copilul merge de-a bușilea ; degetele prezină umflături datorate măririi țesutului osteoid al falangelor, în timp ce încheietura degetelor rămîne de dimensiuni normale ; prezintă edeme supramaleolare, tibia curbată în formă de semicerc și platfus cu greutate la mers.

Scanned with OKEN Scanner

Manifestări clinice. Copiii rahitici, datorită calcemiei scăzute, pot face tetanie manifestă sau lentă, cu fenomene convulsive; țipă, se rostogolesc și tac brusc; poate apare un „stridor laringian", care este un simptom periculos. Copilul, cînd începe să țipe fără vreo cauză evidentă, capătă brusc un spasm al glotei, își ține respirația, se cianozează la față, apoi spasmul trece brusc și copilul inspiră cu un suspin lung. De multe ori copilul poate intra într-o convulsie generală: mușchii feței au spasme, cînd țipă fața dă semne de rigiditate, membrele inferioare sînt întinse, degetele de la picioare aplecate în jos, laba piciorului extinsă; la mîini, policele presează celelalte degete flectate, rigide și îndoitura pumnului ușor înconvoiată, care ține 1—2 minute, după care copilul pare normal dar epuizat. Aceste fenomene apar la copiii rahitici care suferă și de spasmofilie, cînd calciul în ser este scăzut sub 7— 10 mg %, iar concentrația fosforului este mai mare. Simptomele de spasmofilie apar frecvent și în perioada unui tratament defectuos al rahitismului, cînd raportul Ca/P este foarte mic.

Starea de rahitism este adesea însoțită și de anemie. Experimentările pe animale rahitice au arătat că asimilarea fierului se face mult mai lent, fapt ce ar putea accentua efectul unei alimentații insuficiente, care poate fi cauza anemiei.

Modificări radiologice. Radiografia încheieturii mîinii și a corpului indică, la linia de osificare diafizo-epifizară a osului lung, la normali, o delimitare precisă, netă, transversală.

La copiii cu rahitism se menționează lărgire a cartilajelor epifizare și o calcifiere neregulată a extremității metafizare a epifizei, care este lărgită. Pe radiografie (fig. 20), capătul diafizelor apare sub formă de cupă, iar joncțiunea osteocartilaginoasă are aspect franjurat „de pieptene sau ferăstrău", cu contur imprecis. Aspectul franjurat se datorează pătrunderii unor prelungiri în formă de fire din porțiunea osoasă în cartilajul transparent.

Fig. 20 — Radiografia mîinii în rahitism.

Cînd rahitismul este mai avansat, apare o lărgire a extremităților cubitusului

și radiusului, prin umflarea cartilajului de conjugare, diminuarea opacității osoase și deformarea prin incurbarea curburilor (129) (fig. 21).

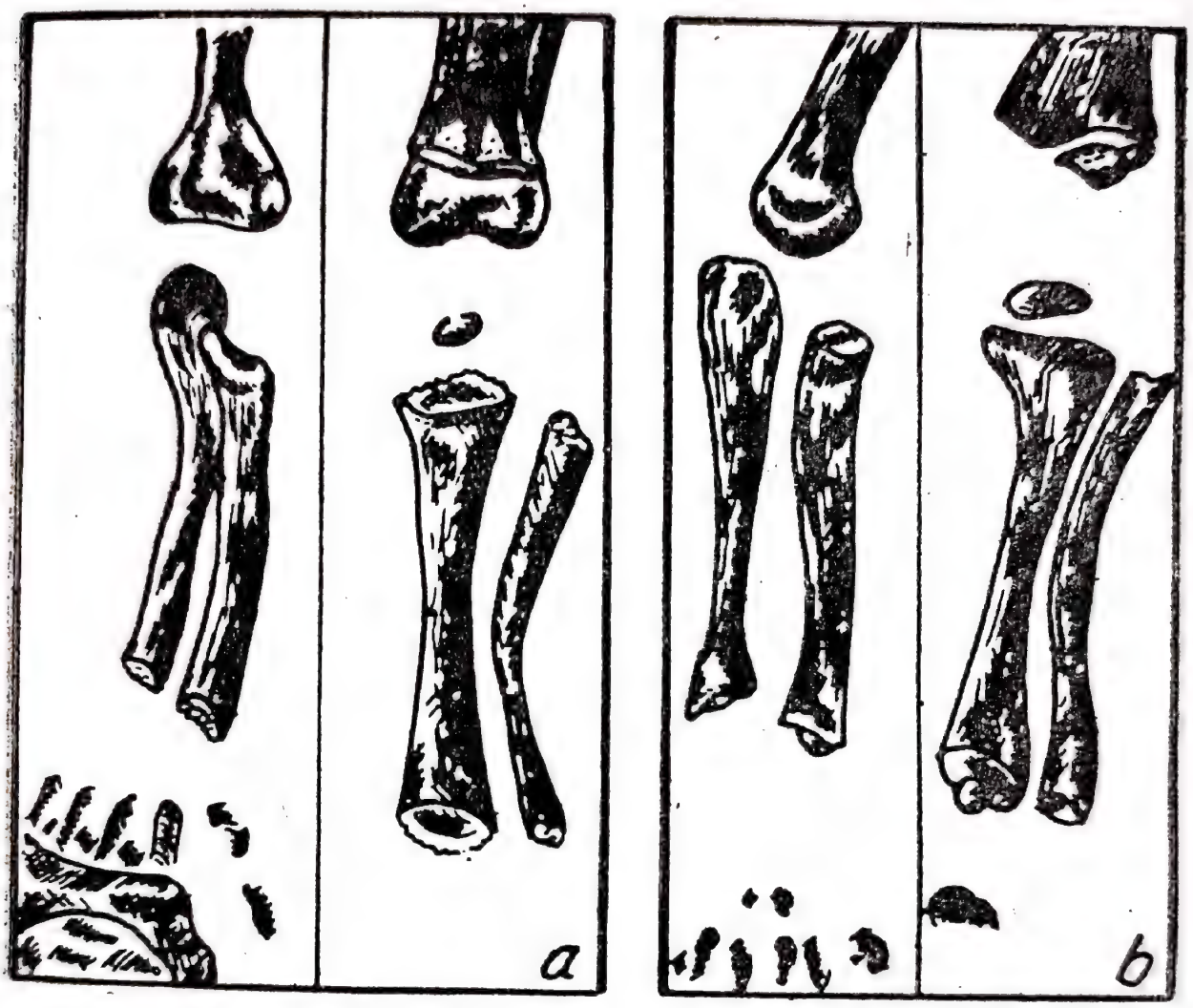


Fig. 21 — Rahitism: oasele mîinii și ale picioarelor înainte și după 3 luni de tratament cu vitamina D.
a) modificări rahitice grave; decalcifierea, curbarea oaselor, zonă de osificare econdrală fibrilară;
b) după 3 luni de tratament cu vitamina D.

După administrarea de vitamină D, în faza de vindecare incipientă a rahitismului apare o linie în zona de cartilaj, paralelă cu marginea diafizei, denumită linia Mueller sau zona de calcifiere, care arată cartilajul nou calcificat, subperiostul care pare dedublat.

Modificările biochimice ce apar în ser la sugari și copiii rahitici: a. concentrația fosforului în caz de rahitism este mai scăzută față de normal (5 mg %), și anume 1—2 mg%; b. valoarea concentrației fosfatazei din ser este crescută (20— 60 U. Bodanscki), față de 5—15 la normali; c. citratul scade de la 2,5 mg% la 1,5 mg%; d. concentrația calciului poate fi normală sau scăzută cînd apare faza tetaniformă; e. scade ATP în țesuturi (sînge, ficat, rinichi).

Scanned with OKEN Scanner

I. Holand și C. Kramer (cit. 72) au indicat un criteriu de apreciere clinică care constă în calcularea raportului Ca/P sanguin. Acest produs este sub 3 în cazul rahitismului.

E. Barbieri și I. Tessari (71) menționează că, în carența de vitamină D, apare o scădere a carboxilazei din cartilagii.

P r e v e n i r e a ș i t r a t a m e n t u l r a h i t i s m u l u i. Cercetările au arătat că 250 UI/zi de preparat hidromiscibil dă posibilitatea prevenirii rahitismului la sugari, atunci cînd se administrează vitamina D uleioasă în scop preventiv. Unii autori recomandă 800 UI/zi.

În perioada copilăriei și adolescenței se indică a fi administrate 400 UI/zi în laptele care formează alimentația acestora. Tratamentul curativ al rahitismului se efectuează în raport de gravitatea bolii. Aceeași cantitate se recomandă zilnic și la adult (73). Cînd boala s-a instalat la sugari, se impune administrarea zilnică a 1 200 UI vitamină D. După circa 25 de zile de administrare a vitaminei, concentrația fosforului plasmatic crește, iar linia Mueller începe să se întrevadă pe radiografii. Dacă simptomatologia și analizele biochimice, ca și examenele radiologice indică un diagnostic sever, se recomandă administrarea în cantități mari de vitamină D (5 000—2 500 UI/zi), timp de 40—50 zile, pînă cînd capetele oaselor au revenit la aspect normal. Vitamina D influențează procesul de oxidare al glucozei în cartilajiile animalelor cu rahitism.

Într-o serie de cazuri cu rahitism s-au folosit doze unice de 300—600 000 UI, atît în scop profilactic, cît și curativ. La sugarii prematuri o doză de 300 000 UI pune la adăpost timp de 3—4 luni sugarul respectiv. Tot în scop terapeutic s-a mai utilizat în alimentația zilnică un amestec format din 30 ml soluție molară de citrat de sodiu și 20 ml soluție molară de acid citric. Un copil care a suferit și căruia i s-a făcut tratament cu vitamina D se consideră *vindecat* nu numai atunci cînd radiografia oaselor este normală ci, mai ales, cînd *valorile calciului* și *fosforului* seric, ca și a *fosfatazei alcaline* sînt cuprinse în limite fiziologice normale (**Ca^{++} = 9,5 mg %; P = 0,36 — 0,60 g/l; fosfataza alcalină = 25—92 U/l**).

Rahitism congenital rezistent la vitamina D

Există și un rahitism rezistent la vitamina D, care este o maladie familială transmisă prin gene, dominant legată de sex sau autozomală. Boala a fost denumită și rahitism rezistent la vitamina D, primitiv hipofosforic. Această maladie constă într-o reabsorbție insuficientă de fosfat la nivelul tubilor renali, cu o diureză fosfatică marcată și cu fosfatemie.

Vitamina D, în aceste cazuri, are o acțiune insuficientă asupra stimulării absorbției calciului la nivelul tractului gastro-intestinal. Semnele clinice sînt asemănătoare celor din rahitism, însă simptomele apar mai tîrziu, cam după vîrsta de doi ani și chiar la pubertate. Bolnavii prezintă

membrele inferioare curbate, sînt de statură mică și au o instabilitate a articulațiilor datorită luxației ligamentelor. La acești bolnavi, cu toate că se face o absorbție normală, fiziologică a vitaminei D, există o insuficientă absorbție a calciului și fosforului la nivelul intestinului. Aminoaciduria renală este mai mare decît cea din rahitismul prin deficiență primitivă de vitamină D.

Luînd în considerare opinia unor autori (H. F. De Luca, 1975 (43), F. Korte, M. Goto, 1975, N. Colston, 1979 (81) etc.) că vitaminele D devin active în organism numai după ce au fost hidrolizate la nivelul ficatului și rinichiului, atunci este posibilă și apariția unei stări rahitice în condițiile unor stări patologice hepatice și renale, cînd sistemul hidroxilazelor din aceste organe este afectat și deci în imposibilitatea de a se hidroliza, la nivelul reticulului endoplasmatic hepatic, vitamina D_3 (colecalciferolul) în 25-hidroxicolecalciferol, iar acesta, la rîndul lui, neputînd fi convertit prin hidrolizare în metabolitul activ 1,25-dihidroxicolecalciferol (fig. 12).

Considerăm că în analiza urmărilor nefrectomiei trebuie să se țină seama și de existența insuficientă a acestei convertiri biochimice.

2.11.4.1.2. *Osteomalacia.* La adult, carența de vitamină D, calciu, fosfor, proteine și lipide provoacă apariția maladiei denumită osteomalacie, care se manifestă, ca și în rahitism, printr-o calcifiere defectuoasă a țesutului osteoid. Această maladie de origine dietetică, predominantă la sexul feminin, poate să apară și în cazul unei absorbții intestinale deficitare sau în insuficiență renală. De asemenea, tulburări digestive ale absorbției grăsimilor duc la formarea sărurilor de calciu insolubile, care sînt eliminate o dată cu vitamina D prin fecale, ceea ce caracterizează maladia denumită *steatoree cronică.*

Osteomalacia poate să mai apară și în *bolile pancreatice,* în anumite *leziuni ale intestinului subțire* sau în caz de *rezecție intestinală*; de asemenea, poate apare în *icterul obstructiv* și *fistula biliară.*

Cauzele secundare care favorizează apariția osteomalaciei sau intensifică simptomatologia ei sînt: graviditatea, lactația și inanița.

Necesarul pentru adulți și vîrstnici de vitamină D: 300 UI/zi; pentru gravide și femei care alăptează, 800 UI/zi.

Examenul clinic. Simptomatologia osteomalaciei se caracterizează prin aceea că bolnavul acuză dureri la membrele inferioare, mai ales atunci cînd stă în picioare, precum și în partea inferioară a toracelui. Palparea șoldurilor, coastelor și coapselor provoacă dureri osoase. Pot surveni deformări ale coloanei cu cifoscolioză la bătrîni, iar la tineri deformarea oaselor pelvine și chiar fracturi; pseudofracturi apar la bătrîni, în special la femei, și, mai rar, la tineri.

Examenul morfopatologic. Examenele morfopatologice indică aceleași aspecte cu cele din rahitism; trabeculele osoase sînt

Scanned with OKEN Scanner

acoperite cu fîşii de ţesut osteoid, spaţiile intervertebrale sînt lărgite. La examenul microscopic se observă foarte mulţi osteoblaşti şi foarte puţini osteoclaşti. Cele mai afectate sînt oasele lungi şi pelvisul, iar mai puţin lezate sînt coloana vertebrală şi calota craniană.

Modificări radiologice. Radiografia coloanei vertebrale indică o inegalitate a calcifierii, mai ales în regiunea dorsală; osteoporoza corpurilor vertebrali (fig. 22). Vertebrele sînt mai turtite anterior decît posterior, cu contururi laterale îngroşate (vertebre „în mosorel sau în galet"). La radiografia oaselor lungi şi ischio-pubiene se observă fisuri osoase, cu zone de claritate, regulate, uneori simetrice pînă la 1 cm, nedureroase, benzi clare, liniare, perpendiculare pe marele ax al osului lung, ocupînd toată lărgimea sa; este imaginea unei pseudofracturi fără angulaţie şi fără deplasare (70).

Fig. 22 — Osteoporoza coloanei vertebrale.

Modificări biochimice. De un ajutor esenţial în stabilirea diagnosticului acestei boli este examenul biochimic.

a. În serul bolnavilor de osteomalacie se găseşte fosforul mult scăzut (de la 5 mg la 1—2 mg%), iar calciul are valori normale sau uşor scăzute (70—80 mg/l).

Fosfataza alcalină serică prezintă o activitate mărită (de la 6—8 UB la 40—60 UB).

b. În urina bolnavilor se observă o mărire a excreţiei de fosfor şi o micşorare pronunţată a calciului.

c. Calciul din fecale prezintă valori mărite.

Cînd examenele biochimice indică în plasmă şi o micşorare a valorilor vitaminei A şi ale carotenului, atunci osteomalacia se datorează steatoreei.

2.11.4.2. **Hipervitaminoza D.** O serie de cercetări (74) au arătat că vitaminele D sintetice, oricît ar fi de pure, totuşi, în doze mari, sînt toxice pentru om. Se citează cazuri de letalitate a copiilor care au băut cantităţi mari de ulei de peşte şi s-au expus la soare. De asemenea, din-

Scanned with OKEN Scanner

tr-un mare număr de bolnavi care aveau maladia de piele „lupus vulgaris" și care au primit ca tratament 100 000—150 000 UI/zi sau 600 000 UI/săptămînă, circa 20% au prezentat fenomene toxice ; unii autori arată că simptomatologia toxică a apărut și la 700 000 UI, administrate timp de 10 zile. P. Barer și W. Powler au avut cazuri de copii a căror creștere a fost sever tulburată întrucît primiseră un exces de vitamină : D. Debré (174) menționează că din 31 copiii cu hipervitaminoză acută 12 au murit. S-a observat că, cu cît absorbția este mai rapidă, cu atît și fenomenele toxice pot să apară mai devreme. Dacă vitamina D se administrează per os în soluții uleioase, s-a văzut că acestea sînt mai puțin toxice decît vitamina D în soluție alcoolică. De asemenea, și soluțiile uleioase injectabile de vitamină sînt mai puțin toxice în comparație cu soluțiile emulsionate hidrosolubile. Dozele de 20 000 UI (0,5 mg) — 50 000 UI (1,2 mg) pe zi sînt toxice pentru sugari dacă sînt continuate mai multe săptămîni. După doze mai mari de 0,5 mg/zi, apar tulburări digestive la copii.

Intoxicația datorată hipervitaminozei D se manifestă și prin cefalee, cu sensibilitate acută a scalpului, așa încît bolnavul nu-și poate odihni capul pe pernă. Apar mialgii și atralgii și uneori transpirații abundente. Bolnavul simte mîinile și picioarele amorțite, cu polinevrită (75).

Fenomenele care apar în cazul intoxicației provocate de o supradozare de vitamină decurg din creșterea concentrației calciului din plasmă. Acesta este un indiciu de supradozare a vitaminei D, deci o stare de hipervitaminoză ; bolnavul prezintă o creștere a concentrației calciului de circa 16 mg/100 ml sau mai mult. Creșterea calciului din sînge poate duce la o calcifiere metastatică în organe (cornee, sclerotică, vase etc.), dar mai ales a aortei și arterelor renale, ducînd la nefrocalcinoză și scleroză glomerulară prin hipercalcemie. Apar tulburări gastrice, slăbiciuni, oboseală, cefalee, dezorientare, poliurie, anorexie, grețuri, vărsături, pierderea în greutate. La copii apar constipații ce alternează cu diaree, pe cînd la adult numai diaree. De asemenea, bolnavii au senzația de sete și fenomene de depresiune psihică cu dezorientare ; copilul devine capricios și taciturn. Dacă se administrează în continuare vitamina D, atunci apar : anemie, poliurie, nicturie, care poate duce pînă la retenție de azot, degenerescență calcică a corneei etc.

Datorită stării de hipercalcemie apar leziuni renale prin nefrocalcinoză (ce duce la insuficiență renală cu oligurie) și blocarea secreției hormonului paratiroidian.

Moartea poate surveni datorită uremiei sau prin hemoragie subarahnoidiană ca și prin tulburări cardiovasculare.

L. Kleinerman (76) consideră, între factorii care provoacă leziuni endoteliale coronariene în inițierea aterogenezei din cardiopatia ischemică, și excesul de vitamină D.

Scanned with OKEN Scanner

Hipervitaminoza D provoacă modificarea echilibrului Mg^{2+}/Ca^{2+}, care este însoțită de apariția unor stări patologice ca, de exemplu, calcifierea indusă de un aport crescut de calciu.

Examenele biochimice. În urină: prezența albuminei, a cilindrilor hialini, frecvența leucocitelor; fosfataza sanguină prezintă valori foarte mici; poate apare hipertensiunea arterială, care impune efectuarea examenelor biochimice, ce indică hipercalcemie (16 mg%) cu hipercalciurie.

Modificări radiologice. În cazul hipervitaminozei D se pot constata: demineralizare osoasă, depozite calcare în rinichi, în inimă, vase, plămîni, stomac și creier. Aceste manifestări sînt similare cu cele din hiperparatiroidism sau din sindromul hipercalcemic. Pot apare la copiii mici după o administrare masivă, timp de 3—9 zile, de vitamină D, iar la copiii mari semnele apar după 2—3 săptămîni de la administrare.

Tratamentul hipervitaminozei D. Se recomandă oprirea administrării vitaminei D, iar în cazurile grave, mai ales la sugari, se impune administrarea i.v. de ser fiziologic, întrucît una din cauzele morții este pierderea din organism a electroliților (77). Copilul va primi multă apă și regimul va avea puțin calciu; concomitent, se administrează și antibiotice pentru a înlătura flora patogenă care s-a instalat în organismul bolnavului. Prognosticul, în general, este bun și poate dispare chiar calcifierea. Simptomele insuficienței renale pot continua încă multe luni ca și incapacitatea renală de a excreta urina concentrată. O atenție deosebită trebuie să se acorde copiilor care și-au revenit din convulsii, întrucît aceștia pot avea o revenire convulsionantă chiar după mai multe luni.

În cazul bolnavilor cu *nefrită* sînt contraindicate utilizarea dozelor mari de vitamină D.

2.11.5. **Interrelații cu vitamine și hormoni.** C. Bomskow (28) constată, experimental, că vitamina A în doze mari este contraindicată în acțiunea vitaminei D în rahitism, întrucît aceasta provoacă în doze mari fragilitatea oaselor și demineralizarea lor la șobolani.

Există un antagonism al vitaminei A împotriva consecințelor unei hipervitamonoze D, antagonism care poate să fie explicat fie prin faptul că dozele mari de vitamină A interferă cu efectul osteolitic al vitaminei D, fie prin rolul particular al vitaminei A, deoarece această vitamină, după cum afirmă Clark I. și Basset L. (78), grăbește totdeauna imaturarea oaselor și remodelarea lor.

Raul Y. și Ragheb-Hanna R. (79) au constatat, experimentînd pe șobolani cu hipervitaminoză A, după ce au administrat un exces de vitamină D pe cale s.c., că se ameliorează timpul de coagulare al animalelor.

H. Dam și N. Cruse indică (tabelul 25) influența pe care o are vitamina D, asociată cu alte vitamine, la animalele carențate în vitaminele C și D (cit. 80).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 25

Influența unor vitamine asupra consecințelor carențiale în vitaminele C și D la cobai (79)

Adaosuri la regimul de bază	Mortalitate %	Greutate corporală (g)	Hemoragii (%)	Suprarenale (%)	Acid ascorbic mg/g		
					Suprarenale	Ficat	Inimă
0	20,0	236,9 ± 10,02	62,5	87,7	0,077 ±0,009	0,069 ±0,001	0,040 ±0,001
A. 0,075 mg caroten	20,0	251,1 ± 7,15	53,1	94,9	0,154 ±0,028	0,121 ±0,006	0,094 ±0,004
C. 5,0 mg ascorbat	0,0	315,4 ± 7,76	0,0	50,9	0,684 ±0,074	0,204 ±0,008	0,140 ±0,005
D. 0,075 mg calciferol	55,5	195,3 ± 3,30	81,2	105,8	0,097 ±0,009	0,087 ±0,002	0,040 ±0,002
A+C	0,0	332,5 ± 8,92	0,0	50,4	0,427 ±0,094	0,161 ±0,007	0,110 ±0,004
A+D	55,5	202,1 ± 4,15	68,7	89,6	0,178 ±0,032	0,090 ±0,002	0,060 ±0,003
C+D	16,7	308,8 ± 8,80	5,0	50,9	0,405 ±0,109	0,114 ±0,006	0,079 ±0,003
A+C+D	25,0	280,6 ± 9,65	0,0	56,3	0,396 ±0,098	0,138 ±0,007	0,099 ±0,004

Vitamina D împreună cu vitamina K intervin în sinteza proteinei osoase necolagene, denumită osteocalcina, care reprezintă la adult 15—20%.

Sinteza osteocalcinei (bone GLA protein) este efectuată de către celulele țesutului osos și sub dependența vitaminei K.

Cu toate că osteocalcina a fost pusă în evidență încă de acum 10 ani, rolul fiziologic al ei nu este încă în totalitate elucidat. S-a constatat că osteocalcina are un efect stimulant asupra osteoclastelor, ajungînd în final la o creștere globală a remodelajului osos datorită fenomenului de cuplaj osteoclaste-osteoblaste.

Osteocalcina reprezintă astăzi un marker al remodelajului osos în ansamblul său (rahitism, osteomalacie, osteoporoză etc.).

Vitamina D participă la reglarea metabolismului fosforului și calciului (fosfo-calcic) ca și parathormonul și antagonistul acestuia, tireocalcitonina, dar prin mecanisme diferite ; astfel, parathormonul provoacă fosfaturia, ce are ca urmare scăderea concentrației fosfaților serici ; are loc o resorbție a calciului și fosfaților din fracțiunea stabilă a matricei osului, precum și o intensificare a resorbției calciului din tractul intestinal

Scanned with OKEN Scanner

și trecerea lui din celulele mucoasei intestinale în sînge, faptul determinînd apariția unei hipercalcemii cu hipofosfatemie, întrucît eliminarea prin urină a fosfaților întrece pe cea a calciului.

Carența de vitamină D produce hipocalcemie, determinînd o secreție crescută a glandelor paratiroide în parathormon, care stimulează hidroxilarea 25-OH-D_3 cu formarea 1,25-$(OH)_2$-D_3, iar aceasta determină o absorbție mai intensă a Ca^{2+} din intestin ; există o legătură între activitatea sistemului enzimatic de hidroxilare a vitaminei D pentru formarea 1,25-$(OH)_2$-D_3 și secreția de parathormon în reglarea metabolismului fosfo-calcic (fig. 12).

De asemenea, nivelul calciului din sînge reglează formarea hepatică de 25-(OH)-D_3, precum și conversia renală a acestuia în 1,25-$(OH)_2$-D_3 (82),

Acțiunea vitaminelor D în metabolismul calciului este influențată de hormonii corticosteroizi, în special de cortizol și DOCA.

Vitaminele D în doze mari au o activitate asemănătoare hormonilor estrogeni, care influențează unele procese de calcifiere, pe cînd hormonii androgeni au acțiune rahitogenă (69).

2.12. **Antivitamine D**

Se consideră că o serie de substanțe au acțiune rahitogenă prin împiedicarea absorbției și a depozitării calciului în oase chiar dacă nu există carență de vitamină D.

E. Melamby (83) a descoperit că acidul fitic (acidul inozitolhexafosforic) care se găsește în cereale prezintă această proprietate.

De asemenea, Lecoq a observat că și spanacul prezintă o acțiune rahitogenă, fapt care ulterior s-a constatat a fi datorat carotenoizilor. De altfel, hipervitaminoza A crește fragilitatea osoasă.

În frunzele de ovăz și ale unor graminee, unii autori (188, 189) susțin că au obținut fracțiuni steroide ce ar avea acțiune antivitaminică D. De asemenea, Kodicek E. (89) presupune că acetatul de cortizon acționează asemănător hipervitaminozei D, pe cînd cortizonul, ca antimetabolit al vitaminelor D.

Actinomicina, puromicina, mitramicina au acțiune rahitogenă prin inhibarea biosintezei proteice și a transportului ionilor de calciu de la nivelul intestinului, proces stimulat de vitamina D.

Acțiune antagonică au și : rezerpina, fenobarbitalul, EDTA, hidroxidul de aluminiu, vitaminele B_1, B_{12}, E cisteina, rutinul și oleul de vaselină, administrat per os, care împiedică absorbția vitaminelor D, ca și ionul sulfat și ionul de magneziu.

Scanned with OKEN Scanner

2.13. Preparate farmaceutice și indicațiile terapeutice la om

Frecvent este folosită **Vitamina D_2** (calciferolul, ergocalciferol). Sinonime: Vigantol D_2 (RFG), Sterogyl-Rousel (Franța), Davitamon-Organon (Olanda).

Vitamina D_2 se prezintă sub diverse forme farmaceutice: soluție uleioasă pentru uz intern, flacoane ce conțin 15 000 UI/ml (30 picături) în flacoane a 10 ml; fiole de 3 ml (600 000 UI — soluție buvabilă) și de 1 ml (400 000—600 000 UI), utilizate în injecții i.m. Reamintim că 40 000 US = 1 mg calciferol.

Vitamina D_3 (cholecalciferolul) (FR), Vigantol (Bayer), Vitapur D_3 (Austria), D-Tracetten, Vigorsan (Germania) se prezintă în fiole de 1 ml și 2 ml soluție apoasă, ce conțin 200 000 și 600 000 UI injectabile i.m.

2.13.1 Terapia stărilor patologice la om

În *rahitism* se recomandă, pentru sugari, administrarea în scop *curativ* a dozei de 200 000—600 000 UI Vitamină D_3 sau D_2, o dată administrate per os, continuînd după 6 luni cu dozele indicate pentru profilaxie.

La prematuri, ca și la cei cu demineralizare osoasă importantă, sau care au o calcemie foarte mică, se impune asocierea a 1—2 g gluconat de calciu/zi, timp de 2—3 zile înainte, și 7—10 zile după administrarea vitaminei D. Aportul de vitamină D este obligatoriu la interval de 3—4 luni, timp de un an.

În *hipoparatiroidism* se administrează 50 000—200 000 UI/zi vitamina D_2. În *osteomalacie*, osteoporoză și spasmofilie se administrează în raport de stadiul bolii: în faza incipientă 600 000 UI, în stadiu avansat cîte 600 000 pînă la 240 0000 UI, dozîndu-se calciul sanguin (9—10 mg%) ml.

Vitaminele D sînt utilizate și în scop *profilactic al rahitismului la prematuri*; de la vîrsta de 8 zile se dau oral 2 000—2 500 UI **vitamină D_2**/zi, pînă la vîrsta de $1\frac{1}{2}$ ani, apoi timp de 3—6 luni pe an (în sezonul rece), pînă la vîrsta de 5 ani; se poate administra și intermitent, pe cale orală, cîte 300 000 UI la fiecare 6 luni pînă la 1 $^1/_2$ ani, apoi o dată pe an (la începutul iernii), pînă la vîrsta de 5 ani, sau se injectează i.m. profund 600 000 UI, o dată pe an, la sugarii nesupravegheați.

Profilactic, se administrează **Vitamina D_3** 200 000—400 000 UI la fiecare 6 luni pînă la vîrsta de 5 ani. Tot profilactic se administrează la gravide și mame în cursul alăptării, 500—100 UI/zi.

De asemenea, în stările de *tetanie* ale sugarilor se administrează per os vitamina D_2 sau D_3 600 000 UI, asociat i.v. în mod lent cu glu-

Scanned with OKEN Scanner

conat de calciu 10% (0,10—0,15 gluconat de calciu/Kgc = 1—1,5 ml/Kgc). În lipsă de gluconat de calciu se poate administra per os clorura de calciu 2,5%, care se asociază cu julep gumos 50 g ; din acest amestec se dau per os 10 ml, de 4—6 ori/zi.

În carența vitaminică la *adult și bătrîn*, ca și profilactic, se administrează oral 400—2 000 UI/zi sau oral ori i.m. 300 000 UI o dată la 6 luni.

În **spasmofilia hipocalcemică** se recomandă oral 4 000—8 000 UI/zi ; de asemenea, i.m. sau per os 600 000 UI o dată.

În *osteoporomalacie* se recomandă : vitamina D_2 în scop curativ, pe cale orală 4 000—20 000 UI/zi sau i.m. 600 000, la intervale de 1—2 săptămîni pînă la dispariția durerilor, normalizarea calcemiei și fosforemiei, iar vitamina D_3 cîte 200 000 UI la fiecare 15 zile, timp de 3 luni.

După utilizarea repetată a dozelor mari este necesară observarea calciuriei și, eventual, a calcemiei, pentru a se evita supradozarea.

Viplex — preparat polivitaminic ce conține 250 UI vitamina D_2/drag. **Vitamina A+D_2** ce conține 1 000 UI vit. D_2 și 3 000 UI vit. A/drag. Există și în fiole de 3 ml soluție uleioasă, buvabilă, ce conține vitamina A 350 000 UI și vitamina D_2 300 000 UI, precum și fiole de 1 ml cu vitamina A 30 000 UI și vitamina D_2 15 000 UI.

Pentru uz intern : capsule gelatinoase, conținînd ergocalciferol 550 UI și retinol palmitat 2 500 UI ; soluție uleioasă, ergocalciferol, 15 000 UI/ml.

La copii se administrează astfel : pînă la vîrsta de 2 ani—1 pic. zilnic sad 1 ml din fiola buvabilă la fiecare 6 luni ; între 2—5 ani 2—3 pic., 1 drag. sau 1 capsulă/zi în timpul iernii sau 1 ml soluție buvabilă la începutul iernii ; copii între 5—15 ani 3—5 pic., 1—2 drag. sau capsule/zi sau 1 fiolă o dată buvabilă ; la adulți 2 drag. sau capsule/zi, 5 pic. sau 1 fiolă buvabilă o dată în hipoparatiroidism, în consolidarea fracturilor, în tuberculoza osoasă, în dermatologie, stomatologie etc.

Tratamentul cu vitamina D se aplică și în maladia *„hipofosfatazie"*, boală rară și ereditară, prin substituirea de gene recesive autosomale (85).

AT_{10} — sau dihidrotahisterolul se utilizează în tratamentul rahitismului rezistent la vitamina D, precum și în hipoparatiroidism în corectarea calcemiei, întrucît are proprietatea de a mări concentrația calciului în sînge. Se administrează oral 3—10 ml (1 ml = 1,25 mg) (86).

Acționează mai rapid decît hormonii paratiroidieni, combătînd tetania ; nu se acumulează (82).

Terapia osteomalaciei și osteopatiei de carență. Preparatele de vitamină D se administrează asociate cu sărurile de calciu (gluconat, lactat, clorură). Dozele utile de **vitamină D** variază între 5 000—50 000 UI/zi. Ingerarea de lapte ca și administrarea de glucinat sau lactat de

Scanned with OKEN Scanner

calciu cîte 5 g, de 3 ori/zi, dizolvate în apă, poate asigura necesitatea de calciu în osteomalacie și osteoporoză.

Gluconatul de Ca 10% soluție injectabilă (fiole a 5 ml și 10 ml) se administrează i.m. sau i.v. în doză de 10 ml/zi. Efectul clinic se manifestă prin dispariția rapidă a durerilor și a osteoporozei, decelată radiologic.

La unii bolnavi, vitaminoterapia, asociată cu administrarea de calciu se face, timp de 10—30 zile, pentru ca să revină la valori normale ; calcemia, fosfataza alcalină, fosfatemia, fosfaturia, raportul Ca/P ca și acidul citric din sînge, cînd se află sub valoarea fiziologică (3—4 mg%).

Preparatul— **1-25-dihidroxivitamina D_3**— a fost aplicat (Okano M., 1987) în psoriazis vulgaris, în doze de 0,5 μg/g — unguent cu efect inhibitor al proliferării celulelor epidermice.

De asemenea, în afecțiunile osoase care însoțesc nefritele cronice, cirozele hepatice, hipoparatiroidism, după terapia îndelungată cu barbiturice sau hidantoină, cînd apare hipocalcemia, pentru normalizarea acesteia se recomandă să se administreze 1-25-dihidroxivitamina D_3 și nu vitamina D care nu este eficientă în asemenea cazuri.

Precauții. Nu se administrează vitamina D_3 la pacienții cu nefrite, litiază renală, ateroscleroză, hipercalcemii, procese degenerative cardiovasculare.

La copii se va administra cu prudență, pentru a nu se ajunge la hipervitaminoză.

Din cercetările experimentale, inițiate de academician J. Nițulescu și colaboratori (87) pe șobolani, iepuri, pui de găină, ca și prin observațiile efectuate pe materialul uman de autopsie a copiilor decedați în maternitate și spitalul de copii Iași, privind vitamina D ca factor de risc aterogen, se desprind următoarele :

1. Vitamina D, administrată în doze mari de hipervitaminizare, determină stări patologice nu numai prin apariția tulburărilor acute imediate, ci și prin leziuni lente evolutive cardiovasculare, care continuă și după sistarea vitaminizării, sub aparența unei stări generale normale.

2. Favorizează evoluția lentă prelungită a leziunilor, starea de distrofie generală, care poate fi provocată de : „carența de vitamină A, regim hipoproteic, hipocaloric, adaus în dietă de colesterol, gălbenuș de ou, administrarea de adrenalină ; de asemenea, rahitismul experimentat a avut același efect sensibilizant".

3. Autorii susțin că : „se impune sistarea stass-terapiei ca regulă generală, ținînd cont că fracționarea dozei de vitamină D este mult mai bine tolerată".

De asemenea, se afirmă că „numai cînd se vor putea dovedi neîndoios și necontestabil că dozele de vitamina D administrate fără măsură în copilărie nu reprezintă o primejdie pentru viitor, că leziunile produse

Scanned with OKEN Scanner

sînt cu totul inofensive și deplin reversibile, numai atunci medicii pediatri care nu-și mai revăd pacienții, dar trebuie să se gîndească la viitorul lor, se pot considera liberați de răspundere.

Pînă atunci orice tratament cu vitamina D cere discernămînt deplin conștient de răspunderea care și-o asumă".

Observații

La copii, pentru a ușura administrarea orală, se recomandă folosirea de retinol dizolvat în propilenglicol, care este miscibil cu laptele, în locul soluției uleioase.

Vitamina D_3 poate fi administrată și în sirop, dar numai după ce a fost solubilizată prin intermediul polisorbitolului 80 și a fost protejată cu antioxidant (galat de etil, butilhidroxitoluen), asociat cu acid ascorbic sau acid citric (84).

Vitamina D_2 este mai bine resorbită i.m. dacă este solubilizată cu tensioactivi (polisorbat 80), care influențează permeabilitatea membranelor, favorizînd resorbția substanței active.

2.13.2. Vitaminoterapie veterinară (61)

Tabelul 26

Administrarea vitaminelor D la animale în funcție de maladie/zi

Maladia	Animale mari	Animale mijlocii	Viței	Miei purcei	Păsări	Pui
Rahitism, Osteomalacie și miopatii la tineret (pro die, oral)	10—25,000 U.I.z	100— 3 000 UI	2 000z 3 000 UI	400— 10 00 UI	250 U.I.	250 UI pt. 10/cap

Pe cale i.m., dozele pot fi de 50—80 ori mai mari, administrate iarna, în fiecare lună. Dozele preventive pot varia în funcție de raportul Ca/P ; cînd acesta este echilibrat, se administrează doze minime, cînd este depășit într-o parte sau alta, dozele cresc.

Incopatibilități. Vitaminele D administrate concomitent cu gentatimidul diminuă perioada de înjumătățire a acestuia.

Păstrare : în locuri uscate, ferite de lumină.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. NENIȚESCU D.C., Chimie organică. Ed. did. și ped. (Buc.) (1968). 2. CHIOSA L., Vitamine și antivitamine. Ed. Med. (Buc.), (1966). 3. SCHWENK E., ALEXANDER G., STOUDT T.H., FISH C.A., Arch. C.A., Arch. Biochem. Biophys., 274, 55 (1955). 4. ENESCU L. — Biochimie (I), Lit. IMF Iași (1979). 5. GHEORGHI A. și col., Biochimia și fiziologia

Scanned with OKEN Scanner

legumelor și fructelor, Ed. Acad. RSR (1983). **6.** BLOCH K., Vitamins and Hormones, 15, 121 (1957). **7.** HOFFMAN W.S., The Biochemistry of clinical medicine. Year Book Medical Publ. Chicago (1970). **8.** FRAGNER J., Vitamine, Gustav Fischer Verlag, Jena (1965). **9.** JAVILLIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., BOULANGER P., LEMOIGNE M., ROCHE Y., WURMSER R., Traité de Biochimie Generale, T. II, fs. I, Ed. Masson et C^ie, Paris (1962). **10.** RAOUL Y., Le BOULCH M., Bull. Soc. Chim. Biol., 45, 145, (1963). **11.** BLONDIN G.A., KULKARIN B.D., NES W.R., J. Am. Chem. Soc., 86, 2 528 (1964). **12.** WAGNER F., FOLKERS K., Vitamins and coenzymes. Interscience Publishers, New-York, London (1964). **13.** ENESCU L., Vitamine liposolubile, Lit. IMF Iași (1975). **14.** MUREȘAN V., SIMINOVICI M., Standardizarea biologică a medicamentelor, Ed. Med. București (1955). **15.** GOODMAN L., GILMAN A., Bazele farmacologice ale terapeuticii, Ed. Med. Buc., (1960). **16.** XXX Farmacopeea britanică. Londra (1953). **17.** XXX Pharmacopeea of the United States, XVIII, Marck Printing Co., Philadelphia, Pa., 915 (1970). **18.** HANEWALD K.H., MULDER F.J., KENNING I., J. Pharm. Sci. 57, 1 308 (1968). **19.** FETTER D.K., YAKOBS M.F., RAWLINGS H.N., J. Pharm. Sci, 60, 913 (1971). **20.** XXX Farmacopeea română, Ed. IX, Ed. Med, Buc., (1965). **21.** HESS AP., VEINSTOCK M., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. ,23, 406 (1976). **22.** ROSETTI-COLTOIU M., OȚELEANU D., Biocatalizatori, Ed. Med. (1980). **23.** BICKNELL F., The Vitamins in medicine, London, Heinemann (1953). **24.** EMBLETON J., COLLINGS A.J., Nature, 1 959, 340 (1967). **25.** EATON H.D., et coll., J. Dayry Sci., 30, 787 (1967). **26.** SMITH H.C., SPECTOR H., J. Nutrit., 20, 19, (1960), **27.** SMITH M.C., SPECTOR H., J.Nutrit. 20, 197 (1960). **28.** ARAKI M., CHIN S., RYO K., J. Vitaminol (Osaka), 3, 61 (1957). **29.** MARTIN D.L., De LUCA H.F., Arch. Biochem. Biophys. 134, 139 (1969). **30.** G. MYRTLE J.F., HAUSSLER M.R., NORMAN A.W., J. Biol. Chem. 245, 1 190 (1970). **31.** PETERSEN P.A., J. Biol. Chem. 246, 7 748 (1971). **32.** ADAMS T.H., WONG R.G., NORMAN A.W., Federation Proc., 28, 759 (1969). **33.** FRASER D.R., KODICEK E., Biochem. J., 106, 485, (1968). **34.** De LUCA M.F., Metab. and mechanism of action of 25-hidroxicolecalciferol, celular mechanism for calcium transfer. Acad. Press. New-York, 421, (1971). **35.** FRASER D.R., KODICEK E., Nature, 228, 764 (1970). **36.** GRAY R., BOYLE I., De LUCA H.F., Science, 172, 1 232 (1971). **37.** LAWSON D.E.M., WILSON R.W., KODICEK E., J. Biochiem. 115, 269 (1969). **38.** KODICEK E., LAWSON D.E.M., WILSON P.W., Nature, 228, 763 (1970). **39.** BOYLE J.T., GRAY R.W., De LUCA H.F., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68, 2 131 (1971). **40.** HAUSSLER M.R., BOYCE D.W., LITTLEDIKE E.T., RASMUSSEN H., Proc. Nat., Acad. Sci. 68, 177 (1971). **41.** CORRADINO R.A., WASSERMAN R.H., Fed. Proc. 31, 686 (1972). **42.** MYRTLE J.F., NORMAN A.W., Sci. 171, 79 (1971). **43.** TANAKA Y., FRANK H., De LUCA H. F., Endocrynology, 92, 417 (1973). **44.** EMITAGE J. S., LAWSON D.E.M., KODICEK E., Nature, 246 100 (1983). **45.** BOYLE T., OMDAHL L., GRAY R., De LUCA H.F., J.Biol. Chem., 248, 4 174 (1973). **46.** WASSERMAN R.H., TAYLOR A.N., Nature, London, 198, 30 (1963). **47.** TAYLOR A.N., WASSERMAN R.H., J. Histochem, 18, 107 (1970). **48.** FULMER C.S., WASSERMAN R.H., Fed. Proc. 31, 693 (1972). **49.** HITCHMAN A.J.W., HARRISON J.E., Canad. J. Biochem. 50, 758 (1972). **50.** INGERSOLL R.J., WASSERMAN R.H., J. Biol. Chem., 246, 2 808 (1971) **51.** HORWITZ S., BAR A., Amer. J. Physiol., 222, 761 (1972). **52.** MELANCON M.J., De LUCA H., Biochem. J., 9, 1 658 (1970). **53.** DAVIES W.A., Nature, 170, 849 (1962). **54.** WARKANY J., HAHON H. E., Am. J. Dis. Child., 60, 606 (1960). **55.** ENESCU L., — Biochimie Medicală, vol. II, Lit. IMF (1977) **56.** THIERS H., Les vitamines. Ed. Masson, Paris (1956). **57.** TAYLOR N., WASSERMAN R.H., Amer. J. Physiol., 223, 110 (1972). **58.** WASSERMAN H.R., TAYLOR H.R. „Triangle", Sandoz J. of Med. Sci., 12, 119 (1973). **59.** WASSERMAN H.R., TAYLOR A.N., J. Nutr. 103 586, (1973). **60.** WONG R.G., ADAMS T.H., ROBERTS P.A., NORMAN A.W., Biochem. Biophys. Acta., 219, 61 (1970). **61.** ENESCU L., Farmacologie veterinară. Ed. Did. Ped. (Buc.), (1968). **62.** TANAKA Y., De LUCA H.F., Arch. Biochem. 146, 574 (1971). 148. WIDDOUWSON E.M., Voeding, 23, 62 (1962). **63.** GRECU I., MARIA NEAMȚU, ENESCU L., Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice, Ed. Junimea, Iași (1982). 150 ENESCU L., Biochimie medicală, vol. II, Lit. IMF Iași (1978). **64.** KODICEK E., Clin. Endocr. Metab., 1, 305

Scanned with OKEN Scanner

(1972). **65.** JERENAUD B., Metabolism, 10, 535 (1961). **66.** STEARNS G., JEANES P.C., Proc. Soc. Expr. Biol. Med. 32, 428 (1935). **67.** LENTIG G., PAPAGANO I., Acta. Vitamin. enzymol. (Milano), 28, 172 (1974). **68.** TAYLOR A.N., WASSERMAN R.H., Amer. J. Physiol, 223, 110 (1982). **69.** DANCASTER C.P., JACKSON W.P.U., South. African M. J., 36, 364 (1968). **70.** GOUNELLE H., MARNAV C., Savoyr interpreter les signes et tests des carences vitaminiques. Ed. Visker, Bruxelles (1965). **71.** TEESARI I., Acta Vita urinologica, 14, 97 (1960). **72.** BOULANGER P., POLONOVSKI J., TAYEAU F., MANDEL P., BISERIE G., Biochim. Med. Ed. Masson, Paris (1968). **73.** TICCA M., PASETTO N., Acta vitam. enzymol., Milano, 28, 144 (1974). **74.** SCHEINBERG I.H., Fed. Proc. 20, Suppl. 10, 179 (1971). **75.** CLARKE G.H.V., Brit. J. Dermat. Syph., 61, 409 (1959). **76.** KLEINERMAN L., Cardiopatie ischemică, Ed. Medicală (Buc.), 49 (1981). **77.** MADDEN J.F., J. Amer. Med. Ass., 115 588 (1950). **78.** CLARK I., BASSETT A.L., J. Exp. Med. 115, 147 (1962). **79.** RAUL Y., RAGHEB-HANNA C.R., Soc. Biol. 144, 17, (1950). **80.** MCGRAW J.V., Soc. Biol., 154, 1 905 (1960). **81.** PKRANO M., OKADA N., KITANO Y., 17^{-th} World Congress of Dermatology, P. II, 12, Berlin (1987). Ed. Univ. Centr. Steglitz. **82.** BEDELEANU D., MAMTA I., Biochimie Medicală. Ed. Dacia (1985). **83.** MELLANBY E., SURIE E., HARRISON D.C., Med. Rev. Council. Spec. Rept. 61, (1981). **84.** CRUICKSHANK E. M., KODICEK E., ARAKI M., J. Vitaminol 3, 61(1987)., **85.** DUCAN G.G., Bolile metabolismului, Ed. Med. (Buc.), (1966). **86.** SOUCI S.W. Die Zusamensetzung der Lebensmittel, wissenschaftliche Verlagsgesselschaft, Stuttgart (1981). **87.** SOFIA DOLINESCU, MARIA MIHAILA, Centenar Ses. St., 2, IMF Iași, 1—2 dec. 1979, f. 76.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL 3

VITAMINA E. TOCOFEROLII

3.1. Istoric

În 1922, Hebert McLean, M. Ewans şi S. Biashop (1) au menţionat existenţa vitaminei antisterilităţii.

În 1924, observaţiile lui M. Ewans au fost confirmate şi de B. Sure (2) care a propus numele de vitamină E. Cercetările lui N. Beard, din 1926, efectuate pe şoareci au dus la aceleaşi concluzii.

M. Ewans împreună cu I. Burr, în 1927, scriu o succintă monografie în care dau rezultatele experienţelor efectuate pe şobolani ; autorii arată că animalele care nu primeau în hrană seminţe germinate sau frunze de salată verde, în perioada gestaţiei erau supuse fenomenului de deces al fătului şi resorbţia lui.

Factorul care se găseşte în alimente şi care are rol esenţial în gestaţia fiziologică normală a fost denumit vitamina E, întrucît vitaminele cunoscute pînă la acea dată erau pînă la litera D. (3).

Vitamina E (tocoferoli, factor X) a fost considerată, pînă în 1928, ca avînd rol numai în reproducere ; în experimentări pe şobolan s-a observat că sugarii proveniţi de la mame cu deficit de vitamină E paralizau. În 1931, M. Goetsch şi M. Pappenheimer (4) au semnalat că la iepurii de casă şi la cobaii cu carenţă de vitamină E apare o distrofie musculară primară, identică histologic cu distrofia musculară la om.

D. Rinstedt, în 1935, şi W. Eneissarson, în 1939 (cit. 5), au publicat observaţiile lor, arătînd efectele pe care le produce carenţa în vitamina E asupra sistemului nervos central al şobolanului.

P. Vogt-Möller (6) a folosit, pentru prima dată, vitamina E la tratarea sterilităţii la vaci ; în acelaşi timp, vitamina E s-a folosit cu rezultate la două femei cu avorturi repetate.

În 1934, J. Young (7) şi E. Schute (8) au semnalat că au avut rezultate bune cu vitamina E în tratarea avortului iminent şi a toxemiei gravidice.

Cu 54 ani mai tîrziu, F. Bicknell (9) a utilizat vitamina E (mai ales germenii de grîu) în tratamentul distrofiei musculare şi al degenerării neurologice.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, în 1940, A. Stoac și H. Wecsler au obținut rezultate favorabile utilizînd vitamina E în tratamentul distrofiei musculare și al sclerozei amiotrofice laterale.

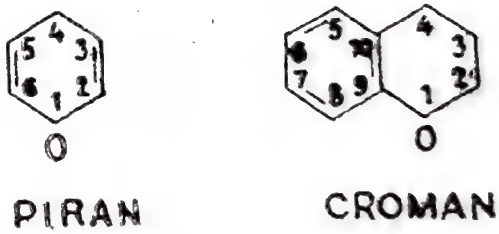
M. Ewans (10) și G. Emerson (11) au izolat, în 1936, din uleiul de germene de grîu, prin tratare cu HCN, 2 alcooli, α și β-tocoferolii, iar din semințele de bumbac γ-tocoferolul. Cercetările lui Fernholz E. (12) au dus la stabilirea structurii, iar ale lui Karrer P. la stabilirea sintezei α, β și γ-tocoferolului ; în 1946 s-a descoperit, în uleiul de soia, existența și proprietățile δ-tocoferolului (13, 14). În forma pură γ-tocoferolul a fost obținut de G. Baxter (14).

În 1955 a fost izolat, din tărîțele de orez, un al 3-lea dimetiltocol, și anume 5-7- dimetil-tocolul (15), denumit ζ-tocoferolul, iar în 1956, H. Eggitt și F. Norris (16) au izolat din tărîțele de nutrețuri un alt izomer tocoferolic, 5-metil-tocolul, denumit ε-tocoferol. De asemenea, în același an, a fost găsit în orez, de J. Green și S. Marcinkiewiez (15), și 7-metil-tocolul, care a fost denumit η-tocoferol.

În 1960, Uniunea Internațională de Chimie Pură și Aplicată (IUPAC) a stabilit normele pentru nomenclatura vitaminelor, înlocuind denumirea vitaminei E cu denumirea de „Tocoferoli" (17) (Tokos = progenitură, ferin = a naște).

3.2. Structura chimică şi activitatea biologică

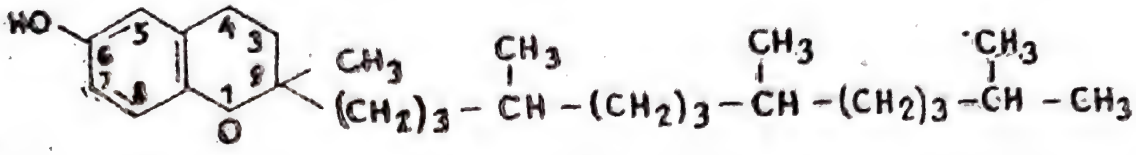
Grupa tocoferolilor cuprinde o serie de compuși omologi și izomeri, care posedă un inel de croman (dihidro-benzopiran) metilat și hidroxilat. Cromanul este format dintr-un ciclu benzenic și un heterociclu piranic.



În structura tocoferolilor, în poziția 6, se găsește un hidroxil fenolic. Tocoferolii cu grupare oxidrică, contrar fenolului normal, nu dau reacție de culoare cu $FeCl_3$ și nu posedă proprietate acidă care să-i permită dizolvarea în soluții alcaline, în schimb, tocoferolul posedă celelalte proprietăți ale fenolului : spectrul de absorbție în ultraviolet este specific fenolului. Stabilitatea esterilor tocoferolilor față de oxidanți contrastează cu sensibilitatea extremă a tocoferolilor cu hidroxidul liber. Proprietatea aceasta este foarte utilă terapeuticii, întrucît vitamina E este pusă în farmacie la dispoziția medicinei sub formă de acetat de tocoferol stabil și nu de tocoferol liber, care este instabil și, prin urmare, neutil practicii medicale.

Mai prezintă o catenă laterală saturată, legată la C_2 al heterociclului, derivată de la fitol ($C_{20}H_{39}OH$). La C_2, care închide inelul oxidic al părții piranice a nucleului, se fixează un radical metil.

Scanned with OKEN Scanner



α—tocoferol (II)=5,7,8 — trimetil-tocol
β—tocoferol (III)=5,8,—dimetil-tocol
γ—tocoferol (IV)=7,8,—dimetil-tocol
δ—tocoferol (V) =8—metil-tocol
ε—tocoferol (VI)=5,8,—dimetil-tocotrienol
ξ—tocoferol (VII) = 5,7,8—trimetil-tocotrienol
ζ—tocoferol (VII') = 5,7 dimetil-tocol
η—tocoferol (VIII) = 7,—metil-tocol

Tocoferolul se obține, după cum a arătat P. Karrer (18), dintr-un produs natural, denumit tocol. Tocolul este un 2-metil-2-fitil-6-hidroxicroman (I), iar fiecare tocoferol are în pozițiile 5, 7, 8 unul pînă la trei grupe metilice.

Cercetările au arătat că acțiunea vitaminică este imprimată de inelul croman, care are gruparea hidroxilică liberă sau esterificată. Esterificarea grupării hidroxil, în cele mai multe cazuri, mărește eficacitatea vitaminei, creînd o anumită stabilitate contra agenților oxidanți. Unii esteri (acetat, fosfat, butirat) au o activitate mai mare decît atunci cînd există forma fenolică liberă.

Cînd gruparea hidroxilică de la C_6 este înlocuită cu gruparea amino- sau mercapto, activitatea vitaminică se menține (19), în schimb, nu mai are activitate antioxidantă ; în cazul că gruparea OH este îndepărtată, atunci molecula pierde proprietatea vitaminică ; de exemplu, compusul dezoxi-α-tocoferol este inactiv și nu diferă de α-tocoferol decît prin pierderea funcției OH.

Eterizarea grupei OH duce la pierderea completă a activității. De asemenea, importanța vitaminică deosebită a tocoferolilor o prezintă și structura catenei laterale ; astfel, restul fitil (C_{16}) poate fi înlocuit de cetil (hexodecil) ; acest produs astfel obținut prezintă același efect și proprietăți ca și α-tocoferolul. Micșorarea catenei ca și modificarea ei duce la pierderea activității vitaminice.

Poziția și numărul radicalilor CH_3 de la ciclul benzenic influențează acțiunea vitaminică a tocoferolilor ; de exemplu, β și γ-tocoferolii au 5% din activitatea α-tocoferolului, iar ζ-tocoferolul numai 1% din acțiunea α-tocoferolului.

N. Jaffe și C. Harris dau ca ordin de mărime în cifre activitatea tocoferolilor astfel : 100 α>40 β>8,3γ>1 δ, pe cînd alți autori redau activitatea pentru toți tocoferolii în felul următor : 100 α>33 β >30 ζ> 10 γ>5 ε>1 δ.

Scanned with OKEN Scanner

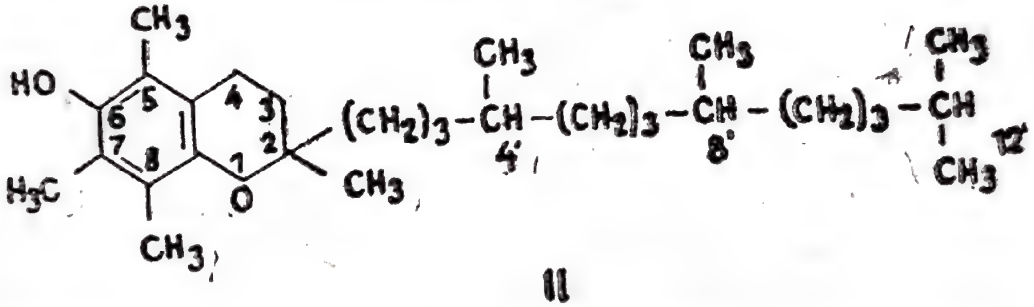
De asemenea, proprietatea antioxidantă a tocoferolilor îi clasifică în următoarea ordine : $\delta > \gamma > \beta > \alpha$.

Înlocuirea grupelor metil cu etil de la nucleul benzenic a dus la o micșorare a activității vitaminice. Karrer P. (20, 21) a arătat că schimbarea grupei metil din poziția 2 cu etil sau propil nu influențează în mod evident activitatea.

Înlocuirea inelului croman cu un inel cumaric micșorează mult activitatea biologică (21).

3.3. α-Tocoferolul

3.3.1. **Structura și biosinteza** α-tocoferolului (II) a fost stabilită de M. Ewans, E. Fernholz, M. Geohan, P. Karrer și I. Topp (1, 10) și este 2, 5, 7, 8-tetrametil 1—2 (4', 8', 12', trimetil-tridecil)-6-hidroxicroman.



II

Biosinteza tocoferolilor și deci și a α-tocoferolului are loc în cloroplastele plantelor verzi, probabil din Y-tocotrienoli, care sînt hidrogenați la tocoferoli și apoi metilați (20).

3.3.2. **Proprietățile fizico-chimice** ale α-tocoferolului. Se prezintă sub formă uleioasă, caracterizîndu-se prin : maximul de absorbție în ultraviolet la 292 nm, optic activ ($\alpha \equiv +0{,}32$), indicele de refracție = 1,5052, densitatea = 0,953 la 15°C, greutatea moleculară = 430,72. Posedă centri asimetrici în pozițiile 2,4' și 8'.

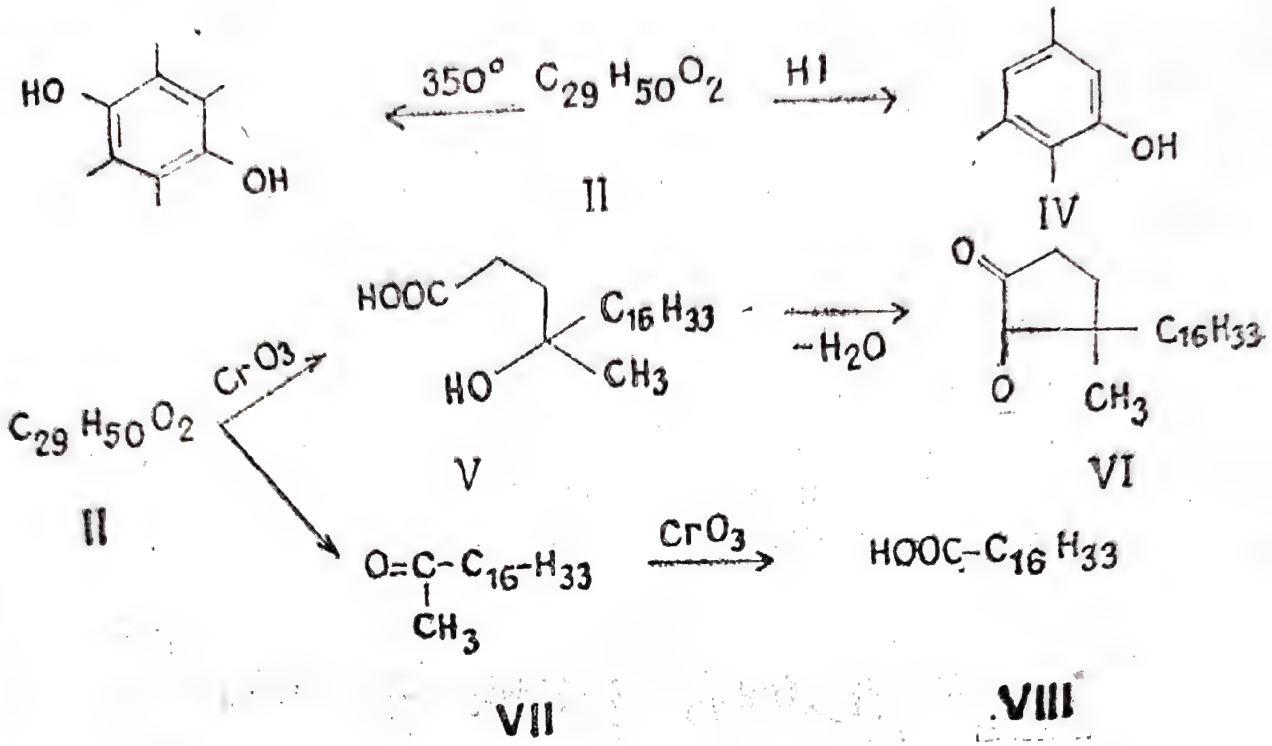
Este insolubil în apă dar solubil în solvenți organici (eter, alcool) și în grăsimi. În timpul preparării alimentare nu este distrus, iar în lipsa oxigenului rezistă la temperatura de peste 250°C.

Acizii minerali diluați nu afectează α-tocoferolul, în schimb este distrus în soluțiile alcaline, chiar la concentrații foarte mici, la temperaturi mai mari de 40°C. De asemenea, acidul azotic, ca și clorul, bromul, $AgNO_3$, $KMnO_4$ și alți agenți oxidanți ($KClO_3$, H_2O_2) îl distrug foarte repede. Radiațiile ultraviolete, grăsimile rîncede, $FeCl_3$ distrug α-tocoferolul.

Prezența grupei hidroxil a dat posibilitatea de formare a esterilor și a p-nitrofeniluretanilor.

α-tocoferolul ($C_{29}H_{50}O_2$) (II), prin tratare termică (350°C), duce la formarea de 2, 3, 5, 6-tetrametil-hidrochinonă (III), iar prin descompunere cu HI rezultă 2, 3, 5-trimetil-fenol (IV).

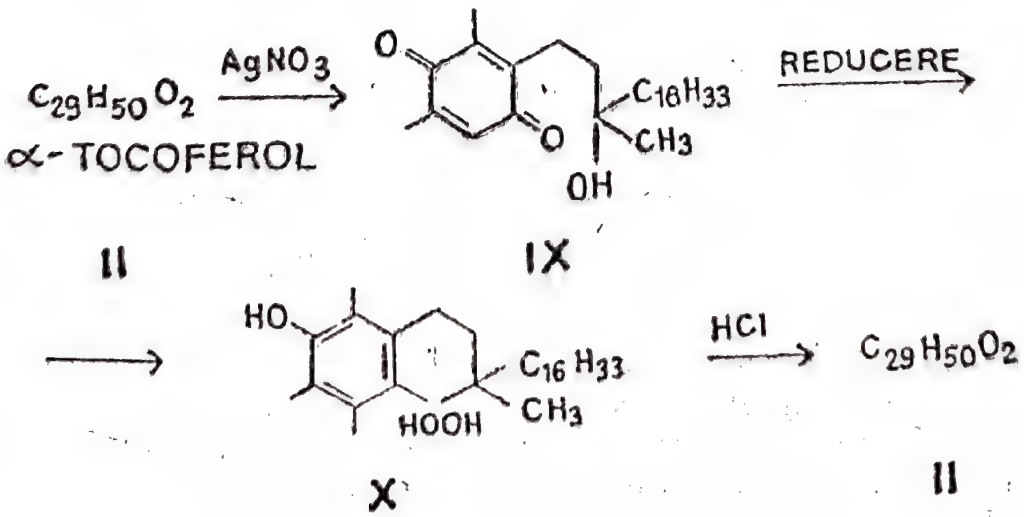
Scanned with OKEN Scanner



De asemenea, prin oxidare cu acid cromic sau anhidridă cromică se obține un hidroxiacid (V) care trece foarte ușor în lactonă (VI).

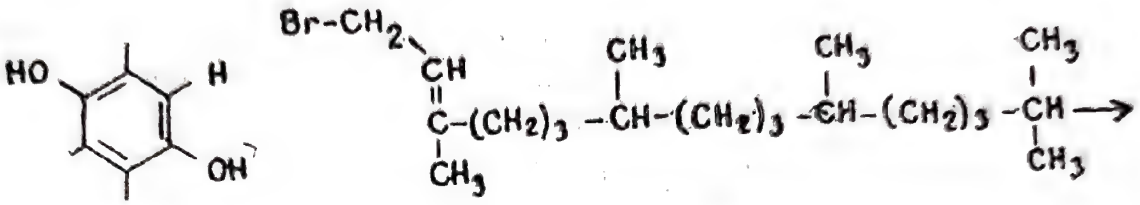
Supus unei oxidări mai puternice, α-tocoferolul (II) se transformă într-o cetonă (VII) care, supusă unei noi oxidări cu acidul cromic, se transformă în acidul respectiv (VIII).

Prin oxidarea α-tocoferolului (II) cu $AgNO_3$ s-a obținut tocoferil-chinona (IX), care a fost redusă la hidrochinonă (X), în care se găsește o grupă hidroxil terțiar. Această hidrochinonă (X), prin acidulare cu HCl, trece din nou în α-tocoferol (II).

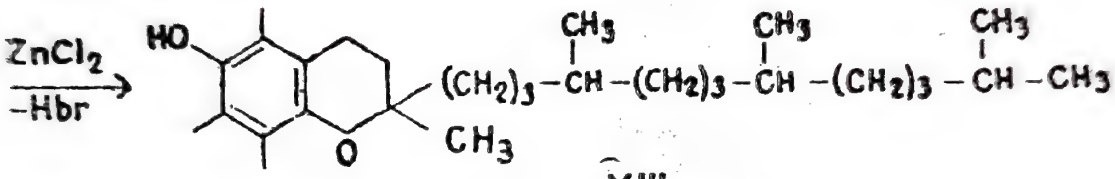


Scanned with OKEN Scanner

3.3.3. **Sinteza α-tocoferolului.** Chiar înainte de a se stabili structura α-tocoferolului, Karrer P., în 1938, a reușit să-i facă sinteza pornind de la 2, 3, 5-trimetilhidrochinonă (XI) și bromură de fitil (XII). Din aceasta, în prezența clorurii de zinc, care are rol de catalizator, s-a obținut D, L —α-tocoferolul (XIII) (cu atomii de carbon 2, 4', 8, asimetrici).

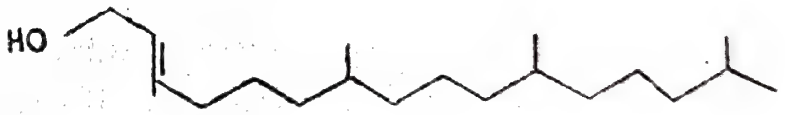


XI XII

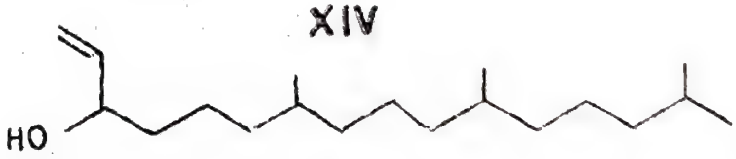


XIII

Procedeul de sinteză indicat de Karrer P. a fost folosit ca model pentru căutarea de noi metode; astfel 2, 3, 5-trimetil-hidrochinona (XI) a fost transformată în tocoferol cu ajutorul fitolului natural (XIV), a bromurii de fitil (XII), în prezența $ZnCl_2$ sau $AlCl_2$.



XIV

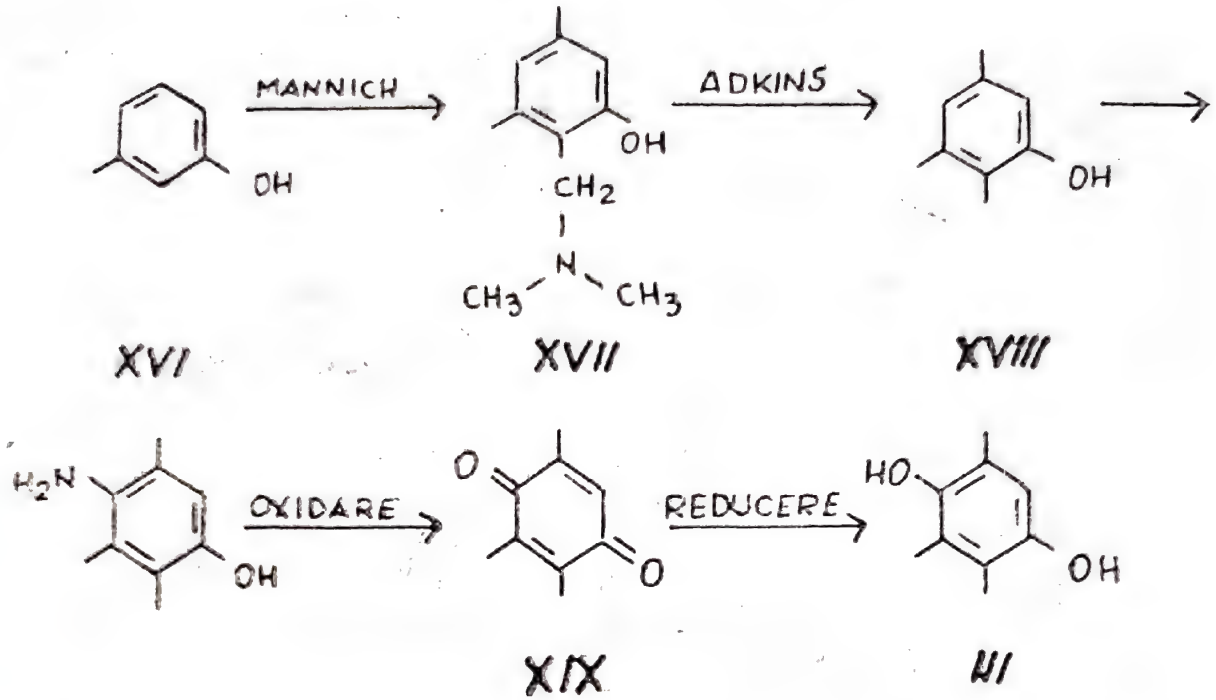


XV

De asemenea, N. Manich (21) arată că metaxilenolul (XVI) poate fi transformat într-un derivat dimetil-amino (XVII) care, după Adkins, poate fi redus la 2, 3, 5-trimetilfenol (XVIII), în prezența catalizatorilor de crom și cupru. Prin nitrare sau cuplare cu săruri de diazoniu se poate introduce în poziția 4 o funcție nitro care, prin reducere, să dea o grupare aminică. Supusă unei oxidări slabe se obține chinona (XIX), care se poate reduce la forma (III) 2, 3, 5-trimetilhidrochinonă.

Fitolul natural (XIV) se obține prin hidroliza clorofilei din făină de urzici. Izofitolul (XV) se poate sintetiza total prin condensarea acetilenei și acetonei în toluen sau xilol în mediu alcalin, după care se hidrogenează catalitic cu paladiu. Rezultanta acestor sinteze este tocoferolul racemic.

Scanned with OKEN Scanner



Astăzi se cunosc numeroase procedee de sinteză a tocoferolilor, prin condensarea trimetilhidrochinonei (TMF) cu fitolul natural, cu cel de sinteză sau cu derivații lor.

În sinteza TMF se pornește de la următoarele materii prime: pseudocumen (trimetil 1, 4, 6-benzen), cumen (izopropilbenzen), m-xilenol (dimetil-3,5-fenol) și p-xilenol (dimetil-2,5-fenol).

3.3.4. **Prepararea α-tocoferolului din vegetale.** Se face o extracție din uleiul de germeni ai semințelor.

Pentru obținerea uleiului se folosesc germenii proaspeți, întrucît rîncezirea micșorează concentrația tocoferolilor, care sînt în proporție de 0,015—0,50%.

Solvenții utilizați pentru extracție sînt: benzenul, eterul, benzina, etanolul fierbinte, furfurolul și propanololul lichid. După evaporarea solvenților rămîne un ulei de culoare închisă, care este saponificat cu KOH, în soluție de alcool metilic, la 20—30°C. Porțiunea nesaponificabilă este extrasă cu eter de petrol, care apoi se supune distilării.

Reziduul se tratează cu pentan, care extrage α-tocoferolul; acesta rămîne sub formă de ulei după evaporarea solventului.

Pentru obținerea α-tocoferolului pur se folosește absorbția pe coloană cu oxid de aluminiu din soluție benzenică.

Prin metoda extracției din vegetale se obțin concentrate cu un conținut de numai 4—65% α-tocoferol.

Uleiul de cătină (Hippophae ramnoides) conține vitamina E într-o proporție de 200 mg% mai mare decît în soia (120 mg%), porumb (100 mg %) și floarea-soarelui (100 mg %).

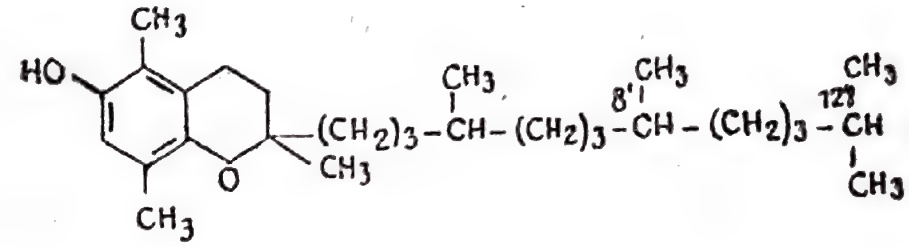
Scanned with OKEN Scanner

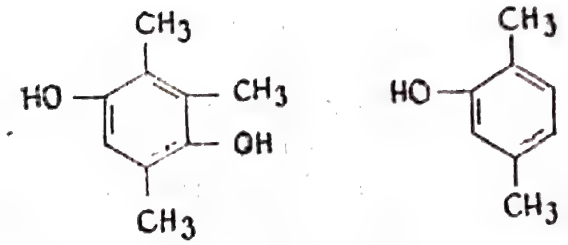
În industrie se folosesc metode de sinteză din durohidrochinonă și bromura de fitil, întrucît sînt mai rapide, mai puțin complicate, produsul are un conținut mult mai mare de α-tocoferol și sînt mai economice.

3.4. β-tocoferolul

β-tocoferolul (2, 5, 8-trimetil-2-(4' 8', 12' trimetildecil)-6-cromanol sau 5, 8-dimetiltocol) are formula brută $C_{28}H_{48}O_2$ și prezintă două grupări metil în inelul aromatic : greutatea moleculară = 416,69.

Se găsește sub formă uleioasă, cu maximul de absorbție în ultraviolet la 287 nm iar rotația optimă specifică +2,9 ; este termostabil în vacuum însă este influențat de oxigen la cald.





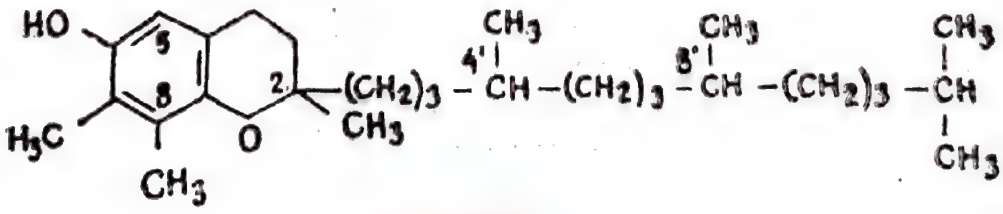
a)

b)

Prin piroliză la 350°C β-tocoferolul dă o trimetilhidrochinonă, (a) iar în prezență de acid iodhidric se obține un 0-xilenol (b).

3.5. λ-tocoferolul

Chimic este 7, 8-dimetiltocolul sau 2, 7, 8-trimetil-2-(4', 8', 12'-trimetildecil)-6-cromanol, fiind un izomer al β-tocoferolului ; are formula brută $C_{28}H_{48}O_2$ și greutatea moleculară = 416,69.



Scanned with OKEN Scanner

A fost izolat de G. Emerson (11) din uleiul de semințe de bumbac și din uleiul de germeni de grîu, iar J. von Baxter și col. au reușit să-l izoleze în stare pură.

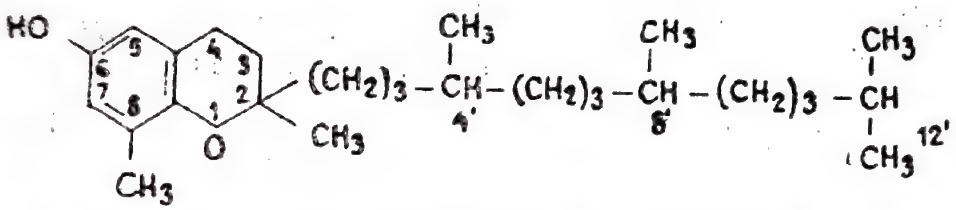
Se prezintă ca un ulei vîscos, din care nu a putut fi cristalizat.

Acești autori au oxidat γ-tocoferolul și au obținut lactona $C_{21}H_{40}O_2$ α- sau β-tocoferolului.

Are absorbția maximă în ultraviolet la 298 nm, iar rotația specifică = +2,2°. Are activitate vitaminică mai slabă decît α- și β-tocoferolul, în schimb posedă activitate antioxidantă mai puternică.

3.6. δ-tocoferolul

δ-tocoferolul (8-metil-tocol) a fost izolat, în 1947, de H. Stern și col., din tocoferolii naturali. din uleiul de soia, sub formă esterificată, de palmitat. Uleiul de soia conține circa 30% δ-tocoferol.



Are formula brută $C_{27}H_{46}O_2$ și greutatea moleculară = 402,67 Prezintă rotația optică specifică = 3,4° în alcool și + 1,1° în benzol.

La temperatura camerei numai esterul palmitic al δ-tocoferolului se prezintă sub formă uleioasă, ceilalți esteri fiind în stare cristalizată.

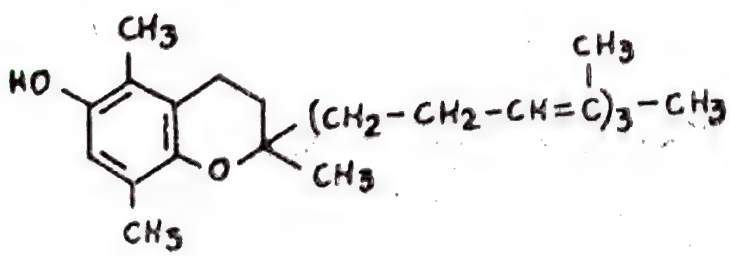
Printr-un proces de oxidare, acest tocoferol trece în parachinonă de culoare galbenă, care se transformă în hidrochinonă, printr-un proces de reducere. Are absorbția maximă la 298 nm.

δ-tocoferolul are acțiune protectoare antioxidantă față de caroten și vitamina A, mult mai activă decît a α-, β-, și γ-tocoferolilor ; posedă însă o activitate vitaminică mult mai mică decît a acestora ; de exemplu, activitatea antisterilității este mai mică de 100 ori față de α-tocoferol.

3.7. ε-tocoferolul

ε-tocoferolul (5, 8-dimetil-tocotrienol) a fost izolat de H. Eggit (16), din grîu, iar de D. Ward (32), J. Green și col. din orz, ovăz și orez.

Cercetările bazate pe măsurători de rezonanță magnetică nucleară au stabilit că tocoferolul izolat din produsele naturale este 2, 5, 8-trimetil-2-(4', 8', 12'-trimetil-trideca)-3', 7', 11'-(trienil)-6-hidroxicroman.

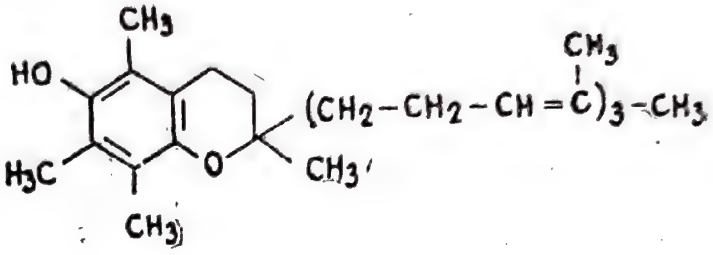


Scanned with OKEN Scanner

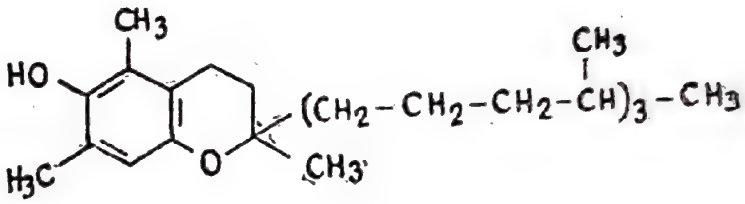
3.8. ς-tocoferolul

În 1955, Green și col. l-au izolat din uleiul de palmier, orz, secară, ovăz, orez etc., arătînd că această substanță are intense proprietăți reducătoare. Absorbția maximă în ultraviolete este la 292,5 nm pentru produsul natural și 294 nm pentru produsul sintetic.

ζ-tocoferolul se găsește sub forma a 2 izomeri : ζ_1- și ζ_2-tocoferol.



ζ_1-tocoferolul (α-tocotrienol sau 5, 7, 8-trimetil-tocotrienol) are formula brută $C_{29}H_{44}O_2$ și greutatea moleculară = 424,67.

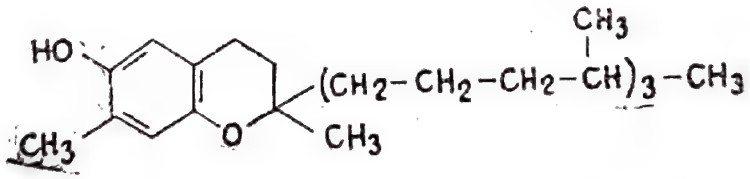


ζ_2-tocoferolul este 5, 7-dimetil-tocol-.

ζ_1-tocoferolul a fost extras din tărîțele de grîu și are activitatea biologică într-o proporție de 30% față de α-tocoferol.

3.9. η-tocoferolul

Este 7-metiltocol sau 2, 7-dimetil-2-(4', 8', 12'- trimetil-tridecil) -6-hidroxocroman. Are formula brută $C_{27}H_{46}O_2$ și greutatea moleculară 402,67. A fost izolat, în 1956, de J. Green (15) și S. Marcinkiewiez, din orez împreună cu α- și ζ-tocoferolul.



Absorbția maximă în ultraviolet este la 293 nm.

3.10. Proprietățile fizico-chimice ale tocoferolilor

Tocoferolii sînt uleiuri mai stabile în mediu acid și nu se descompun prin fierbere, la 100°C, cu acizii minerali concentrați.

Prin esterificare, stabilitatea tocoferolilor crește, mărindu-se totodată și activitatea biologică. Cu derivații nitroși, tocoferolii dau colorații galbene, iar cu $FeCl_3$ formează tocoferol-chinone de culoare galbenă, lipsite de activitatea vitaminică.

Scanned with OKEN Scanner

Toți tocoferolii sînt solubili în grăsimi, eter, eter de petrol, benzen, cloroform, tetraclorură de carbon și sulfură de carbon. Sînt stabili la lumină, dar razele ultraviolete îi alterează rapid. În soluție prezintă o absorbție caracteristică (tabelul 27).

Tabelul 27

Absorbția în ultraviolet a tocoferorilor (23)

Natura tocoferolilor	Solvent	Maximum de absorbție		Autori
		λ nm	E 1% 1 cm	
α—tocoferol natural	izooctan	293	188	Emerson, 1938
α—tocoferol natural	etanol	292	73,7	Emerson, 1938
α—tocoferol sintetic	etanol	292	74,7 75,1	Emerson, 1938
β—tocoferol natural	etanol	297	87,6	Emerson, 1938
β—tocoferol sintetic	etanol	297	85,1	Emerson, 1938
γ—tocoferol natural	etanol	298	92,8	Emerson, 1938
γ—tocoferol sintetic	etanol	300	89,2	Emerson, 1938
δ—tocoferol natural	etanol	298	91,2	Emerson, 1938
Palmitat de —tocoferol	etanol	286	26,8	Emerson, 1938
ζ—tocoferol	etanol	292,2	91,0	Green, 1955
η—tocoferol	etanol	293	78,0	Green, 1956

Toți tocoferolii sînt stabili la cald, iar temperatura de 200°C nu-i afectează în absența oxigenului; prezența aerului provoacă o oxidare foarte ușoară, facilitată mai ales de prezența razelor ultraviolete. De asemenea, sînt oxidați de : $KMnO_4$, ozon, $FeCl_3$, acid perbenzoic, peroxizii acizilor grași, $AgNO_3$ etc.

Produșii care rezultă din oxidarea tocoferolilor variază după condițiile de experiență. De exemplu, prin oxidare ușoară cu $AgNO_3$ și $FeCl_3$ aceștia se transformă în p-tocoferilchinone, care pot fi reduse (cu paladiu în alcool sau cu zinc în acid acetic) în p-tocoferil-hidrochinonă ; acești compuși nu au acțiune biologică.

γ- și η-tocoferolii, spre deosebire de ceilalți tocoferoli, dau cu diazo-odianisidină o coloratie roșie.

3.11. Metodele de dozare a tocoferolilor

3.11.1. **Metode fizico-chimice.** Pentru determinarea tocoferolilor s-au descris diverse metode fizice, bazate pe absorbția maximă, caracteristică acestora la 292, 297, 300 și 265 nm, după ce a fost oxidată vitamina cu $AgNO_3$ în soluție de alcool metilic (tabelul 27).

Metodele chimice cele mai satisfăcătoare și aplicabile la preparatele farmaceutice și la serul sanguin se bazează pe reacția de oxidare a vita-

Scanned with OKEN Scanner

minei. Ca agenți oxidanți se folosesc : fericianura ferică în soluție alcool-cloroform, în mediu neutru, cînd apare o culoare albastră (24, 25), foto-colorimetrabilă.

Cu acidul azotic în soluție alcoolică apare o coloratie roșie ; clorura de aur, la 50°C, dă posibilitatea dozării electrometrice a vitaminei.

Din uleiurile vegetale și din grăsimile animale, vitamina E se dozează, după ce s-a făcut saponificarea cu KOH, 2 N la rece și în atmosferă de azot, în prezența hidrochinonei, ca reducător. Partea nesaponificabilă este tratată cu eter iar reziduul, pentru înlăturarea carotenilor, este tratat cu floridină (41) sau se hidrogenează catalitic (42). Sterolii sînt eliminați prin refrigerare și filtrare, iar soluția alcoolică de tocoferol dă, cu o soluție de acid fosfomolibdenic, o coloratie galben-verzuie. Tocoferolii se pot doza polarografic sau prin metodele cromatografiei, bidimensionale, pe coloană, în strat subțire sau în faza gazoasă.

3.11.2. **Metode biologice.** a. Teste biologice ce se bazează pe acțiunea curativă sau profilactică a produselor asupra unor simptome de sterilitate, specifice la șobolani, care apar datorită hranei carențate în tocoferol. Hrana zilnică carențată pentru fiecare femelă a fost stabilită din : amidon 40%, cazeină 32%, grăsime de porc 22%, lebertran 2%, drojdie de bere 0,4—0,5 g, amestec de săruri 2 %.

Se folosesc femelele de șobolan de rasă cunoscută și, după a 14-a zi de naștere, sînt supuse unui regim carențat în vitamina E. Animalele sînt împărțite în două loturi omogene ; la un lot se administrează vitamina E, iar la celălalt numai regimul carențat. După fecundare, sarcina este controlată prin „semnul placentar" sau „eritrocitar". Animalele se cîntăresc periodic în timpul gestației. Activitatea preparatului se apreciază în raport de modul cum animalele își duc sarcina la termen sau prezintă fenomenul de resorbție a fătului.

O altă metodă creează la femelele șobolanilor o stare carențată cu ajutorul regimului carențat în vitamina E; sînt fecundate și se cîntăresc periodic în timpul gestației, care se termină cu resorbția, urmată de reapariția ciclului extral la lotul de animale care nu a primit vitamina E. La aceste animale împărțite pe grupe li se repetă copulația și li se administrează per os, în primele 5 zile ale gestației, produsul tocoferolic de dozat sau standardul de acetat de α-tocoferol, stabilindu-se doza minimă, care previne resorbția la 50% din animale.

b. Ca test de activitate vitaminică, a mai fost întrebuințată și diateza exudativă alimentară a puilor de găină, care apare în carența de vitamină E.

c. De asemenea, se folosește și testul cu acidul dialuric (26). Hematiile animalelor carențate în tocoferol sînt lizate foarte repede de acidul

Scanned with OKEN Scanner

dialuric, pe cînd hematiile de la animalele care au primit vitamina E nu suferă acest proces.

Eficacitatea in vivo a tocoferolilor asupra inhibiției hemolizei produsă de acidul dialuric descreşte în ordinea următoare: $\alpha > \beta > \mu > \delta > \zeta$, adică în ordinea activității măsurate cu testul resorbției fetale.

3.12. Tocoferolii în natură

În natură, tocoferolii sînt răspîndiți, mai ales, în regnul vegetal, (19)-(tabelele 28, 29 și 30), biosintetizîndu-se prin intermediul acidului mevalonic.

Tabelul 28

Cantitatea medie de tocoferol (24) (mg/100 g)

Alimentul	Proporția de tocoferol
Făină de grîu	25
Piine neagră	2,2—5
Piine albă	1,3
Ulei de porumb	95
Ulei de măsline	23
Ulei de floarea-soarelui	6
Ulei de germeni de porumb	220
Unt	6,8—12
Ouă de găină	3—5
Brînză	1—3
Carne de vită	0,9—3
Ficat de vită	1,5—7
Lapte de vacă	0,2—0,8

Tabelul 29

Cantitatea medie de tocoferol a unor legume și fructe (31) (mg/100 g produs proaspăt)

Arahide	20,20	Varză roșie	2,50
Ardei verde	0,65	Vinete	0,03
Ceapă, castraveți	0,20	Caise	0,50
Fasole boabe	2,30	Căpșuni	0,22
Fasole verde	0,28	Cireșe	0,27
Mazăre	3—18	Agrișe, coacăze	1
Morcovi	0,70	Lămîi	0,80
Păstîrnac	1	Ridichi, gutui	—
Pătrunjel	1,80	Măsline	—
Pepeni	0,10	Mandarine	—
Spanac	2,50	Mere	0,57
Tomate	0,49	Migdale	26,10
Țelină	2,60	Nuci	24,70
Varză albă	0,02	Pere	0,43
Piersici	0,60	Portocale	0,24
Prune	0,80	Zmeură	1,40
Vișine, gulii	—	Struguri	—
Salată	0,39	Cartofi	0,09

Scanned with OKEN Scanner

Vitamina E din alimente rezistă la prepararea termică, dar nu în grăsimile rîncede, care o distrug imediat.

Vitamina E a fost găsită și în polen, în diferite proporții. La scaetele galben (Echinops) — 170 μg/g ; la măr — 80 μg/g polen.

Tabelul 30

Conținutul în tocoferol al diverselor uleiuri (15, 27)

Uleiul	Tocoferol total, mg/g	Tipul de tocoferol — p 100 —						
		α	β	γ	δ	ε	ζ	η
Germene de grîu	2,55	56	33,5	—	—	10,5		
Tărițe	3,20	11	5,5			68	15,5	
Porumb	0,91	11		89				
Rapiță	0,56	27		73				
Soia	1,18	13,5		59	27,5			
Muștar	0,32	26,8		55	18			
Bumbac	0,81	58		42				
Arahide	0,195	35,5		64,5				
Orz	2,38	15,33		6		34,2	44,5	
Secară	2,48	39		5		32	24	
Ovăz	0,61	28		36	10	4	22	
Orez	—	47		—	—		26	27

În produsele animale se află în cantități mici.

3.13. Tocoferolii în organisme

3.13.1. **La om.** În organimul uman, tocoferolii naturali sînt aduși prin alimentație în tractul intestinal, unde sînt absorbiți în prezența bilei și a sucului pancreatic. De la nivelul intestinului, tocoferolii sînt preluați de limfă sub formă de chilomicroni și ajung în circulația sanguină, fiind vehiculați de β-lipoproteinele plasmatice în organism. Importanța pe care o prezintă influența bilei pentru resorbția tocoferolilor la nivelul peretelui intestinal a fost demonstrată prin experiențe efectuate pe șobolani și cîini cu fistulă biliară, la care au apărut simptome de avitaminoză E, cu toate că prin alimentație animalele primeau doza normală vitaminică.

J. Pomeranze, C. Pearson și T. Mc. Mahon (29) arată că absorbția tocoferolilor este mai eficientă pentru intestin dintr-o dispersie micelară, decît dintr-o emulsie. Sărurile biliare sînt necesare la acest nivel pentru absorbția miceliilor mixte, cu produsele digestiei grase și, în special, β-monogliceridele și acizii grași liberi (30).

Folosind H^3-α-tocoferol, C. Pearson a obținut aceleași rezultate, arătînd că faza micelară este forma preferată la care intervine absorbția vitaminei E, deși alterarea compoziției miceliilor nu afectează absorbția.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilitatea de absorbție a tocoferolilor diferă în funcție de sex: la sexul feminin absorbția este mai mare, pe cînd excreția prin fecale este mai mare la bărbat. Fătul ia vitamina E de la mamă, prin intermediul placentei (32).

O viteză de absorbție scăzută s-a observat la om după gastrectomie, după ingestie de parafină sau ulei de pește.

În sînge, cantitatea de vitamină E este în funcție de aportul vitaminic alimentar și de specia respectivă. La omul în stare fiziologică normală, valorile serice prezintă variații, avînd ca medie cantitatea de 1,2 mg/100 ml. Conținutul în vitamină E a diferitelor organe depinde de cantitatea de tocoferoli ingerați în alimentație și absorbiți prin peretele intestinal (33).

Tabelul 31

Tocoferolii în diferite organe (9, 33)

100 g țesut	Tocoferol (mg %)	
	Adult	Făt
Ficat	0,720	0,420
Splină	0,420	0,350
Rinichi	0,370	0,370
Plămîni	0,350	0,230
Creier	0,930	—
Mușchi scheletici	0,430	—
Miocard	1,890	0,550
Uter	0,410	—
Pancreas	0,010	—
Tiroidă	0,870	—
Suprarenale	18,830	6,800
Testicul	1,610	—
Ovare	0,640	—
Țesut adipos	2,300	1,010
Placentă	0,530	—
Lapte	0,940	—

F. Bicknell (9) indică cantități mari de vitamină E la femeie, față de bărbat, înmagazinate în: țesut adipos, pancreas, rinichi, inimă, splină, mușchi.

În perioada *sarcinii*, vitaminemia crește, pe măsură ce sarcina evoluează. Farangot (50) afirmă că media cantitativă evoluează astfel: în primele 4 luni este de 1,25, în lunile 5, 6 și 7 este de 1,65, iar în lunile 8 și 9 este de 1,82 mg/100ml ser.

La *naștere*, vitamina E a nounăscutului este inferioară celei de la mamă (32); după naștere, la mamă, cantitatea este mai mică decît în perioada graviditățiii.

Conținutul de tocoferol din cordonul venos este de aceeași mărime cu cel matern (53,54), pe cînd cel din artera ombilicală este foarte scăzut, cam 1/2 sau 1/3 din cel venos.

În timpul alăptării, sugarul primește tocoferolii prin laptele mamei, care conține tocoferoli în raport de nutriția mamei.

La născuții prematur, nivelul vitaminei E în sînge nu diferă prea mult de cel al născuților la termen însă, după 5 zile, nivelul mediu pentru copiii născuți la termen crește, în medie, cu 0,36 mg, pe cînd la prematuri creșterea nu are loc circa 2 luni, după care se ridică, în medie, cu 0,5 mg (32).

Conținutul normal al tocoferolului în laptele *matern* este, în medie, 0,94 mg %, mult superior laptelui de vacă, care conține cam 0,06 mg %.

Scanned with OKEN Scanner

La om, alimentarea la sîn are drept consecință o creștere rapidă a concentrației tocoferolului sanguin la sugar și înlăturarea hemolizei. La copiii între 4—15 ani nivelul de vitamină E este mai ridicat cu 0,2 mg % (55,56), dar crește spre nivelul normal cînd devine adult.

Nivelul mediu de vitamină E în *plasma umană* a fost găsit că prezintă valori diferite : în Anglia (34), valoarea medie este de 1,31 mg%, variind între 0,60—2,91 mg % ; în Olanda, s-a găsit la 122 adulți normali valori cuprinse între 0,30—1,32 mg/100 ml ; în S.U.A., o serie de autori (67—70) au găsit, la adulți în stare fiziologică normală, valori între 0,88—2 mg/100 ml sînge.

Unii cercetători (35) concluzionează că, culoarea negroidă a pielii și părului nu influențează valorile din sînge ale vitaminei E.

M. Lemley (36) și J. Darby (37) au găsit, *la bătrîni*, valori mai ridicate în unele stări patologice ca : nefrite, în unele maladii cardiovasculare (38) (insuficiență coronariană), în hipotiroidism; în schimb, s-au găsit valori scăzute în toxemii.

H. Nitowsky a observat că, după încetarea tratamentului, în hipotiroidism are loc o mărire a nivelului de colesteroli și de vitamină E, indiferent dacă se administrează sau nu această vitamină. Acești autori consideră că aceste variații paralele dintre colesterol și vitamina E s-ar datora schimburilor care au loc în β-lipoproteinele ce transportă aceste molecule în plasmă.

Excreția tocoferolilor se face, în cea mai mare parte, prin bilă, fecale, urină. Prin urină se elimină sub formă de glucoronați de acid tocoferonic și de tocoferonolactonă, care sînt produși ai metabolitului tocoferilchinona, ce se găsește mai frecvent în ficat, țesut adipos, creier, mușchi etc.

3.13.2. **La păsări și animale.** Există o relație directă între tocoferolii absorbiți și nivelul găsit în plasmă și ficat. Bollinge (34) a demonstrat că nivelul plasmatic crește proporțional cu valoarea logaritmică a concentrației alimentare. Această relație se aplică mai ales la dl-α-tocoferol, dl-ζ-tocoferol și la dl-γ-tocoferol, ale căror concentrații relative sanguine sînt în proporție de 100 : 50 : 8.

O. Wiss și col. (35) au arătat că la găini absorbția pentru diferite forme de tocoferol, atît în stare liberă cît și esterificați, dar cu activitate biologică egală (16 UI), dau o creștere a concentrației în plasmă ce concordă cu activitatea biologică/mg substanță de pornire (fig. 23).

Ouăle conțin vitamina E ; de exemplu, cele de găină conțin în jur de 2 mg %, din care 85% este α-tocoferol (57). Administrarea alimentară de vitamină E între 100—200 mg săptămînal, la găini, a dus la o creștere a cantității de tocoferol în ouă care a variat între 16,5—21,35%.

Scanned with OKEN Scanner

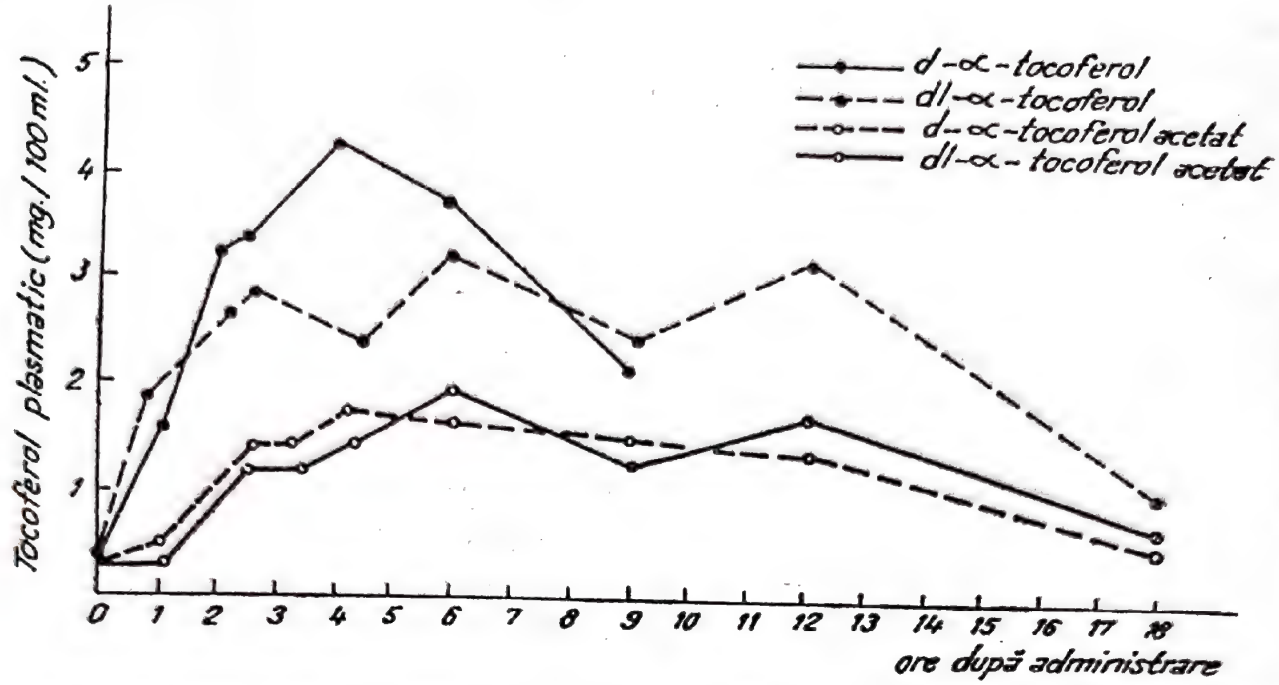
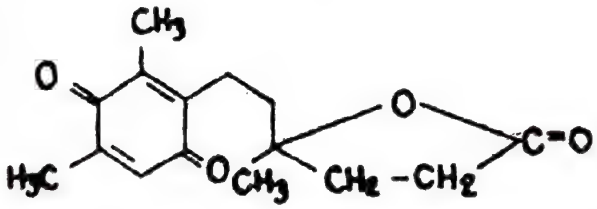


Fig. 23 — Absorbția tocoferolilor la puii de găină după administrarea dozei de 16 U.I.

Experimentele efectuate pe iepuri, la care s-a administrat pe cale bucală succinat de tocoferol—^{14}C, în doză de 15—20 mg, au arătat că se elimină prin fecale, după 3 zile, circa 68% din doza administrată, iar după 6 zile, circa 85% (39). În urină apar cantități foarte mici de tocoferol; cea mai mare parte se găsește sub formă de metabolit, al cărui spectru în ultraviolet este asemănător cu cel al 1-α-tocoferilchinonei, la care catena laterală este degradată (39).



W. Bratzler a observat, la porcine, că într-o alimentație săracă în tocoferoli aceștia n-au fost găsiți în plasmă, în schimb, în sîngele total s-a găsit 0,087 mg/100 ml, iar cînd plasma conținea 0,67 mg/100 ml, în sîngele total s-a găsit 0,73 mg tocoferol/100 ml.

I. Kaludin (40), în experimentările pe șobolani, a constatat că eritrocitele fac rezerve de vitamină E, în schimb serul și eritrocitele șobolanilor sugari conțin numai α-tocoferol, iar la șobolanul adult sînt prezenți β-, γ- și δ-tocoferol.

Administrarea de 2 g vitamină E produce o ridicare a concentrației sanguine a acesteia, efect care este observat mai ușor prin administrarea de tocoferol liber, decît prin administrarea de acetat de tocoferol.

Scanned with OKEN Scanner

La animale (39), adăugarea de cantităţi apreciabile de grăsime în dietele alimentare cu conţinut coborît de vitamină E, în special ulei de peşte, a dus la micşorarea concentraţiei vitaminei E sanguine şi la apariţia distrofiei musculare la iepuri, oi, şoareci, bovine.

H. Dam (41) a arătat că, cu cît cantitatea de acizi graşi nesaturaţi din grăsimea alimentară era mai mare la şobolan, cu atît fenomenele de distrofie erau mai precoce.

De asemenea, R. Rumery (42) a găsit că administrarea unei cantităţi de ulei de ficat de peşte, în proporţie de 10%, a produs distrofie musculară şi, uneori, moartea ; în proporţie de 80% a dus la apariţia paraliziilor severe şi, la un procentaj ridicat, al mortalităţii.

Toate aceste fenomene au putut fi prevenite cu ajutorul tocoferolilor. O parte din cantitatea de tocoferol şi, în special, α-tocoferolul, datorită acţiunii antioxidante pe care o are, protejează legăturile nesaturate împotriva oxidării acizilor graşi în tractul intestinal şi, eventual, în ţesutul animal însuşi.

Efectuînd această funcţie, anumite cantităţi de vitamină E sînt epuizate şi deci, pentru alte funcţii biologice rămîn disponibile cantităţi mai mici.

La animale, nivelul sanguin al vitaminei E variază mult, în raport cu specia, sexul, alimentaţia şi vîrsta (43) ; de exemplu, la porci variază între 0,60—0,70 mg % ml. sînge, la viţei nou-născuţi (88) 0,04 ; la miei 0,02 ; la oile adulte 0,33 ; la cai 0,10—0,70 ; la vaci 0,10—0,20 ; la cîini (86) 0,80—100 mg % ml sînge. Nivelele sanguine scad cu vîrsta ; la animalele în vîrstă, valorile au fost găsite mai mici.

Animalele pot înmagazina vitamina E pentru o perioadă îndelungată de timp, fapt arătat de M. Ewans (1,10, 39), care a găsit că o singură doză de vitamină E administrată la şobolan a fost suficientă pentru 3—4 sarcini normale. De asemenea, E Masson (39) a arătat că în ficatul şobolanilor adulţi se găsesc cantităţi mari de tocoferol, atunci cînd li se administrează doze mari de vitamină E, iar la doze mici, valorile de la nivelul ficatului au fost mai mici decît în celelalte ţesuturi.

Conţinutul cel mai mare de tocoferol a fost semnalat în glanda mamară.

La iepure s-au găsit valori de vitamină E mai mari în muşchi decît în ficat (94), pe cînd la şobolani s-au găsit valori mai mari în ficat decît în muşchi, fapt care explică rezistenţa mai mare a acestei specii de animale la carenţa în vitamina E.

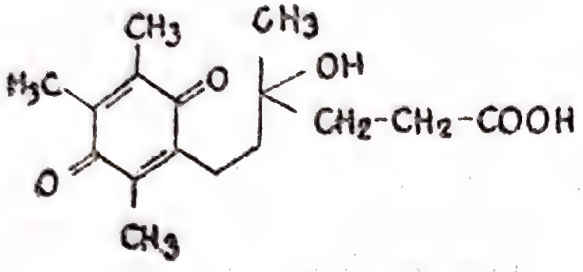
Cercetările efectuate pe un lot de porci (44), care au fost mai bine hrăniţi, cu un regim carenţat în vitamină E, apoi cu acelaşi regim, la care s-au adăugat 55 mg/Kgcorp, au arătat o creştere considerabilă a conţinutului de vitamină E în organe.

Scanned with OKEN Scanner

L. Loosli și col. menționează că laptele vacilor conține o cantitate de vitamină E în raport cu cantitatea acestora din hrană și că, în perioada de pășunat, valorile sînt mult mai ridicate decît în timpul stabulației.

La șobolani, vitamina E este eliminată din organism prin fecale, dar s-a găsit și în urină, după ce s-a administrat o cantitate mare de tocoferoli.

La iepure, după o injectare i.v. de vitamină E, 2/3 s-a eliminat prin fecale, iar 1/4 prin urină. Metabolitul care a apărut în urină a fost glucuronidlactona : 2(3-hidroxi-3-metil-5-carboxipentil)-3, 5, 6-trimetilbenzochinona, care a fost izolată și din urină la om (12, 45).



Atît la animale, cît și la om, vitamina E a fost găsită în bilă și, mai ales, în colostru și în lapte.

3.13.3. **Acțiunea fiziologică.** Tocoferolii prezintă o acțiune fiziologică de diferite intensități; astfel, dacă se consideră activitatea α-tocoferolului=100, atunci a β-tocoferolului este = 25, a γ-tocoferolului=10 și a δ-tocoferolului=1. Activitatea fiziologică a tocoferolilor naturali este mai mare decît a celor de sinteză.

3.13.3.1. *Acțiunea antioxidantă.* Datorită grupării hidroxi-fenolice pe care o conțin, tocoferolii se pot oxida foarte ușor, fapt ce le imprimă o acțiune antioxidantă, care variază în raport invers față de activitatea vitaminică.

Prin funcția antioxidantă, α-tocoferolul protejează globulele roșii împotriva alterării chimice pe care o exercită unele substanțe, care produc hemoliza, ca peroxidul de hidrogen (24, 51, 83).

Rolul antioxidant pe care-l are servește drept bază unui „test" pentru existența unei carențe de vitamină E ; cînd nivelul tocoferolilor plasmatici este scăzut, atunci hematiile manifestă susceptibilitate crescută la hemoliză, fapt ce se evidențiază prin creșterea concentrației hemoglobinei libere în amestecul supus incubării. Se determină această susceptibilitate la hemoliza globulelor roșii, sub influența peroxidului de hidrogen, în condiții standard de temperatură și pH. Susceptibilitatea eritrocitelor în soluție diluată de perhidrol (12 volume/1 000) la hemoliză, este invers proporțională cu scăderea cantității de vitamină E din sînge. Atunci cînd tocoferolemia a fost mai mare de 0,5 mg %, hemoliza nu a depășit 10—12% , dar pe măsură ce tocoferolul sanguin era în cantitate mai mică, în aceeași măsură hemoliza se apropie de 100%.

Analizîndu-se sîngele recoltat din cordonul ombilical de la 72 nounăscuți (46), s-a constatat că hipotocoferolemia a fost cu 36% mai accentuată și hemoliza cu 74% mai intensă la cei care, în primele 7 zile de la

Scanned with OKEN Scanner

naştere, au făcut icter şi că rezistenţa eritrocitelor scade şi în soluţii foarte diluate (1/250 000) de saponină. Aceste rezultate demonstrează că insuficienţa congenitală de tocoferol contribuie la apariţia icterului „neonatorum" sau constituie un factor favorizant (fig. 24).

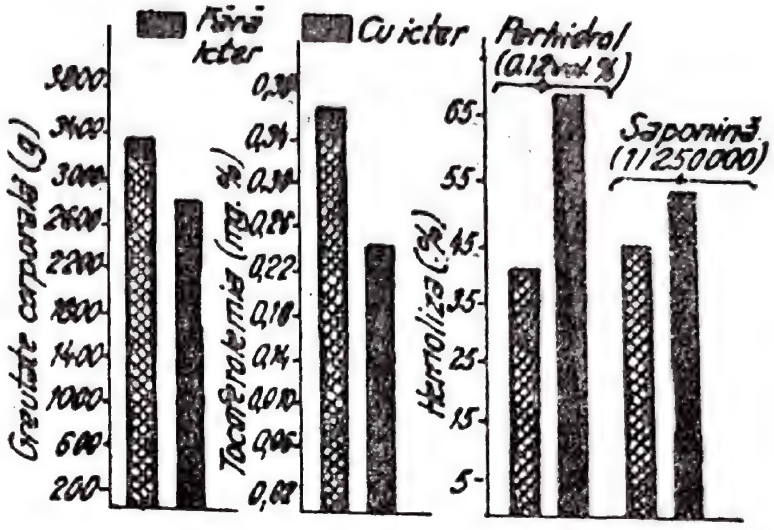


Fig. 24—Tocoferolemia şi hemoliza eritrocitelor la nounăscuţi cu şi fără icter.

Întrucît intensitatea hemolizei în concentraţii mici de saponină (care nu este un oxidant ce acţionează îndeosebi asupra membranelor) variază invers cu cantitatea de tocoferol din plasmă, demonstrează că o carenţă de vitamină E provoacă o distrofie eritrocitară mai complexă decît reducerea capacităţii antioxidante.

Această părere este susţinută şi de faptul că măduva osoasă recoltată de la maimuţe cu carenţă în vitamina E a sintetizat semnificativ mai puţină porfirină din acid α-ceto-glutaric şi glicocol, 90 — 95% a fost protoporfirină şi numai 5—10% coproporfirină.

De asemenea, datorită acţiunii antioxidante, vitamina E protejează grăsimile de oxidare şi deci, de rîncezire.

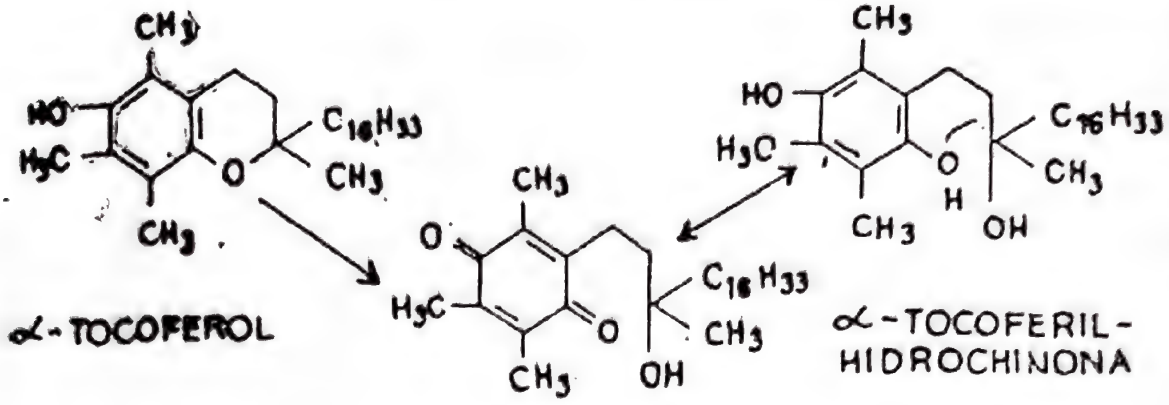
Cercetările au arătat că o grăsime nu rîncezeşte pînă ce nu dispare din mediu vitamina E. Ea protejează în intestin vitamina A şi carotenii de agenţii oxidanţi ; de asemenea, protejează biotina şi vitaminele din grupul B. Cînd se administrează concomitent cu vitamina A şi vitamina E, se reduce necesitatea alimentară în această vitamină. O serie de autori (12, 47, 48) consideră că în celule funcţia principală a tocoferolilor este cea antioxidantă.

Din cauza acţiunilor antioxidante, tocoferolii fac parte din grupa factorilor de creştere, ca şi retinolul şi estrogenii, toate inhibînd procesele aerobe din materia vie. Oxidarea substratelor organice fiind inhibată, ele nu pot fi arse şi nu pot fi folosite decît pentru cîştigarea de energie ; ele sînt înmagazinate şi materia vie creşte.

Tocoferolii trec, prin oxidare, în tocoferilchinonă, care, prin reducere conduce la tocoferil-hidrochinonă ; aceasta se ciclizează, dînd iarăşi tocoferolul iniţial.

Aceste combinaţii formează sistemul redox al tocoferolilor, care explică şi acţiunea antioxidantă, mai ales faţă de retinol, crescînd astfel utilizarea vitaminei A.

Scanned with OKEN Scanner



Această acțiune poate fi îndeplinită și de alte sisteme redox, de exemplu : albastru de metilen, antabuz, tioxin (49, 50), acid ascorbic, acid fosforic, acid citric, care influențează sinergic tocoferolii (fig. 25).

Acțiunea antioxigen se răsfrînge și asupra consumului general de oxigen al organismului. Animalele supuse unui regim carențat de vitamină E prezintă o creștere imediată a consumului de oxigen.

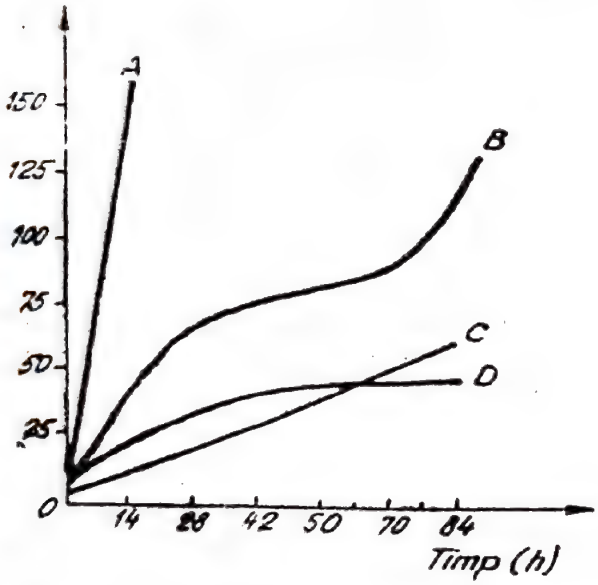


Fig. 25 — Influența sinergică asupra acțiunii α — tocoferolului. A = grăsime ; B=grăsimi +2% α — tocoferol ; C=grăsimi+ 2% α — tocoferol + 0,15% acid ascorbic ; D =grăsimi +2% α — tocoferol + 0,14% acid ascorbic.

Experimentele, efectuate cu fragmente de mușchi, de la animalele supuse unui regim lipsit de vitamină E, au arătat că acestea au un consum de oxigen foarte crescut, care revine la normal cînd, în lichidul nutritiv în care sînt fragmente musculare, se adaugă α-tocoferol-fosfat.

Numeroase date (51, 52, 53) arată că, în mușchii carențați de vitamină E, crește cantitatea peroxizilor, acizilor grași polinesaturați, proces care este inhibat de intervenția vitaminei E. Acest fapt explică contribuția pozitivă a vitaminei E la biosinteza membranelor, prin inhibarea degradării oxidative a acizilor grași din constituția membranelor.

Tocoferolii au rol de protecție în neuroviroze, datorită acțiunii antioxidante.

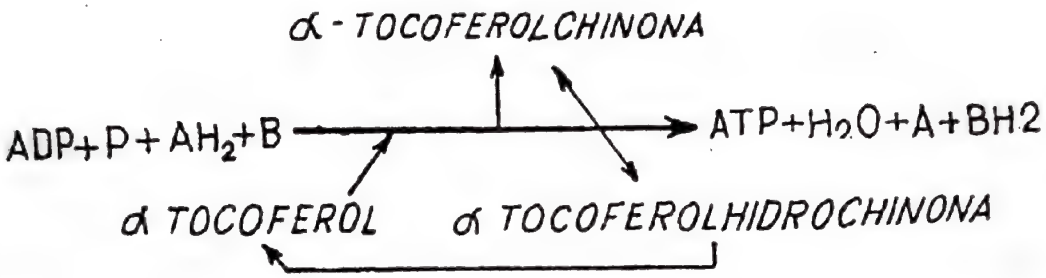
3.13.3.2. *Rolul în oxidoreducerile celulare.* Tocoferolii sînt localizați în mitocondrii, iar α-tocoferolul este un reglator între fosforilarea oxidativă și lanțul reacției de respirație, care concură și se inhibă reciproc.

Scanned with OKEN Scanner

Acțiunea inhibitoare a tocoferolului față de lanțul respirator celular a putut fi întărită prin adaosul unui receptor fosfatic sau a unui factor de decuplare, ca, de exemplu, dinitrofenolii.

Printre argumentele care pledează pentru participarea tocoferolilor la fosforilarea oxidativă este și acela că oxidarea α-tocoferolului la chinona respectivă nu este o deshidratare simplă, ca, de exemplu, oxidarea filohidrochinonei la filochinonă, ci necesită fixarea, în același timp, a unei molecule de apă și deschiderea inelului piranic. Se consideră că în celulă, în locul moleculei de apă, reacționează acidul fosforic, care duce la formarea unui produs intermediar cu legătură fosfat bogată în energie, care poate s-o transfere pe aceasta pe ADP, formîndu-se ATP.

Acțiunea tocoferolilor în fosforilarea oxidativă din lanțul respirator celular s-ar putea schematiza astfel :



P = ionul fosfat ; AH_2 = un substrat care oxidează cedînd H_2 ; B = acceptorul de hidrogen care se reduce.

Unii autori au comparat acțiunea D-α-tocoferolului asupra respirației tisulare cu formarea recemică dl-α-tocoferol, găsind că forma dextrogiră este mult mai activă (54) .

W. Nason și A. Lehman au arătat că α-tocoferolul poate să fie angajat în oxidarea enzimatică a nucleotidelor pirimidinice, fiind un cofactor în transferul de electroni între citocromul b și citocromul c.

NADH→flavină→cit. b. $\xrightarrow{\text{cofactor lipidic vitamina E}}$ cit. c→etc.

De asemenea, experimentîndu-se un preparat enzimatic extras din mușchiul cardiac (54), s-a observat că, inactivîndu-l, acesta devenea activ cînd i se adăuga α-tocoferol.

H. Kröger și M. Klingenberg relatează că ubichinona-10 este un transportor respirator ; totuși, a observat că în carența de vitamină E, timp de 4 luni (52) concentrația ubichinonei nu este influențată de deficitul în tocoferol. În cazul supraîncărcării organismului cu tocoferol s-a constatat că aceștia nu influențează conținutul tisular în ubichinonă (54, 56).

3.13.3.3. *Vitamina E și activitatea enzimatică.* Vitamina E este considerată (53) că acționează ca represor în procesul de biosinteză al

Scanned with OKEN Scanner

proteinelor, întrucît carența în vitamină E determină intensificarea activității enzimelor catabolizante; ribonucleaza, DN-aza, arilsulfataza, catepsinele.

Extractele de izooctan, din mușchiul scheletic al șobolanilor, au proprietatea de a inhiba DPNH-oxidaza și DPNH-citrocrom-reductaza, iar dacă se adaugă o soluție de α-tocoferol 10^{-5}, atunci aceasta se desinhibă.

Carența tocoferolilor lezează mitocondriile și mărește fragilitatea lizozomului, precum și cantitatea de hidrolaze acide eliberate, care acționează asupra constituenților celulari (proteine, acizi nucleici etc.), ducînd la simptomul de distrofie musculară.

De asemenea, carența determină o scădere a încorporării fosforului în acizii nucleici, lezînd proteinogeneza și mitoza celulară.

Distrofia musculară cuprinde aproape toată masa musculară striată, în schimb modificări ale musculaturii netede s-au semnalat la nivelul uterului, trompelor, stomacului și intestinului. Distrofia musculară poate cuprinde și musculatura orbitară, cu opacifierea cristalinului.

Vitamina E intervine în biosinteza enzimelor cu structură heminică : triptofanpirolaza, catalaza, citocrom b_5 etc . ; acționează asupra aminolevulin-deshidrataza, enzimă importantă în biosinteza hemului și în hematopoeză. L. D'Agostino a observat, la bărbații în vîrstă de 30 ani, că o doză de 12 mg tocoferol provoacă scăderea foarte rapidă a cocarboxilazei sanguine.

3.13.3.4. *Vitamina E și metabolismul intermediar*

a. Vitamina E intervine în metabolismul proteic ; experimentările au arătat că administrarea unor cantități mari de vitamină E, asociată cu un regim carențat proteic, împiedică apariția simptomelor ce survin după regimul sărac în proteine.

b. Vitamina E intervine în metabolismul : aminoacizilor, acizilor grași — în special al celor nesaturați și al colesterolului.

c. Vitamina E mărește permeabilitatea membranelor celulare și permeabilitatea capilară pentru unele substanțe anorganice (Na^+, K^+ Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-) (55) și organice (ATP, unii aminoacizi, acidul creatinfosforic).

d. Vitamina E intervine în metabolismul acizilor nucleici ; experimentările au arătat că, în carența de vitamină E, apare în mușchi și măduva spinării, o biosinteză și o degradare accentuată de ADN, iar în urina animalelor fosfați de riboză și alantoină, care sînt elemente ale catabolismului acizilor nucleici.

3.13.4. **Stări patologice**

3.13.4.1. *Hipovitaminoze.* Carența vitaminei E produce o serie de simptome, care sînt caracteristice speciei, vîrstei și sexului animalului și omului.

Scanned with OKEN Scanner

a. *Sistemul muscular*

Hipovitaminoza și avitaminoza E, la om și animale, determină apariția distrofiei musculare, însoțită de liza proteinelor musculare, datorată activității mărite a proteazelor de la acest nivel.

Distrofia musculară precoce a fost găsită la copiii cu malnutriție severă și la adulții cu maladii cronice, ce provoacă o absorbție deficitară (steatoree, malabsorbție etc.). Aceasta se caracterizează, morfopatologic, prin apariția unor fragmentări ale fibrelor musculare, edem interstițial, infiltrație leucocitară cu histiocite, necroză și fibroză ; lîngă fibrele dezintegrate sînt altele intacte.

La toate aceste simptome distrofice, cantitatea de creatinină din mușchi este scăzută. Creatinuria apare înainte ca leziunile musculare să devină extensive.

Tulburările metabolismului proteic conduc la aminoacidurie și alantoinurie.

Înainte de instalarea distrofiei musculare sau chiar în absența acesteia, insuficiența tocoferolului determină apariția ribozofosfatului în urină (pentozurie) și o masivă creatinurie, cu scăderea concentrației acestei substanțe în mușchi.

Eliminarea creatininei s-a atribuit incapacității mușchilor de a o transforma în fosfogen (P-creatină), întrucît în ficatul animalelor carențate s-au găsit cantități mai mari decît la martori. La aceste constatări vin să se adauge concluziile cercetătorilor, care au arătat că, după administrarea de glicocol marcat (care este un precursor) la animalele carențate, a crescut activitatea specifică a creatininei din urină, pe cînd în mușchi creșterea a fost redusă.

Întrucît creatinina din urină crește, apare o mărire a raportului dintre creatină/creatinină, care formează un indiciu sigur pentru stabilirea stării în care se găsește aportul alimentar cu tocoferol, precum și efectul pe care-l produce administrarea vitaminei E.

Observațiile efectuate pe animale și pe copii au arătat că la tratamentul cu vitamină E dispare, în primul rînd, creatinuria, în timp ce la adult, creatinina nu dispare din urină.

Carența vitaminei E afectează mitocondriile și produce fragilitatea lizozomilor, cu creșterea eliberării hidrolazelor acide, care măresc procesele de catabolizare ale componenților celulari (proteine, acizi nucleici, polizaharide), contribuind la instalarea distrofiei musculare.

Bedeleanu D. (57) menționează că mușchiul cardiac conține 1,5 μM tocoferoli/g (sub formă de chinone și hidrochinone), ceea ce reprezintă o cantitate dublă față de citocromul C, sugerînd rolul important în metabolismul cardiac ; în carența de vitamină E se produce și o alterare biochimică a mușchiului inimii, care poate provoca moartea animalelor (cobai, iepuri) prin insuficiență a miocardului.

Scanned with OKEN Scanner

b. *Sistemul nervos.* Leziunile sistemului nervos, în deficiența de tocoferoli, depind de importanța pe care o au căile piramidale anterioare, pe cînd în unele cazuri pot să apară și leziuni encefalice pronunțate, la păsări cu necroze și edem.

Hipovitaminoza poate provoca o scleroză a măduvei spinării în regiunea lombară și tulburări de pareză ale trenului posterior.

Creierul arată focare de ramolisment și hemoragie cu trombi hialini în vasele cerebelului, în cazurile cu hipovitaminoză.

c. *Sistemul osos.* Scheletul prezintă decalcifieri, cu leziuni atît la oasele craniului, cît și la oasele lungi care sînt îngroșate.

d. *Sistemul hepatopoetic.* Carența de vitamină E poate duce la anemie, cînd în țesuturi se depune un pigment acido-rezistent. Cercetările histochimice arată că acest pigment este de tip lipofuxină (derivat din grăsimile nesaturate prin peroxidare și polimerizare). Acest pigment este similar cu un alt pigment, denumit „ceroid", care apare în ficatul șobolanilor în cazul cirozei, consecutiv cu deficiența de colină și proteină, formîndu-se prin autooxidarea lipidelor nesaturate. Cantități mari de pigment ceroid au fost găsite atît la copiii cu scleroză chistică a pancreasului, cît și la bolnavii cu boală celiacă și sprue.

Pigmentul apare în musculatura netedă a stomacului, intestinului, arborelui bronșic și în epiteliul vezicii urinare, în special după 2 ani de boală ; obișnuit, la om, nu se găsește pigmentul de tip lipofucsină decît după vîrsta de 10 ani. Pigmentul apare cu atît mai repede, cu cît regimul are cantități mai mici de tocoferoli și este bogat în acizi grași poleinici.

S-a observat că paralel cu pigmentarea crește indicele de peroxidație a grăsimilor din țesuturile organelor respective, iar mărirea consumului de acizi grași poleinici accelerează sărăcirea organismului în vitamină E ; acest efect al acizilor grași poleinici a putut fi anihilat prin administrarea de antioxidanți : tionina, vitamina C, albastru de metilen, tioxin, tiodifenilamină etc.

Vitamina E protejează vitamina A și eritrocitele de acțiunea oxidantă a peroxizilor, printr-un mecanism asemănător.

În cazul unor cantități mult scăzute de tocoferoli plasmatici, acizii grași poleinici din stroma lipoproteică a hematiilor, sub influența acțiunii oxidante a hemoglobinei, trec în peroxizi și rezistența eritrocitelor scade mult la liză. Experiențele făcute, prin injectarea de peroxid linoleic la animale cu dietă săracă în tocoferoli, a grăbit apariția simptomelor carențiale în mai mare cantitate, decît mărirea aportului de acizi grași poleinici.

La primate și la om, lipsa vitaminei E se răsfrînge atît asupra musculaturii, cît și asupra hematopoezei și vitalității eritrocitelor. Cercetările efectuate pe maimuțe au dus la concluzia că, după distrofia mus-

Scanned with OKEN Scanner

culară, apare anemia de tip macrocitar, care este simptomul cel mai constant în cazul carenței în vitamină E (197, 198).

Cercetările cu ioni marcați (^{51}Cr), efectuate pe maimuțe care prezentau hipotocoferolemii, au arătat că semidurata vieții eritrocitelor a fost mai scurtă cu 30—50%, decît la martorii care au primit tocoferol. Hematiile de la animalele cu carență în vitamină E sînt ușor lizate de aloxan, de acidul dialuric sau de apa oxigenată in vitro, pe cînd hematiile de la animalele fără carență nu suferă liză. În hipovitaminoza E s-a observat o creștere cantitativă a peroxizilor în sînge și o scădere a catalazei eritrocitare, care mișcorează rezistența hematiilor la liză. Se crede că peroxizii provin din procesul de oxidare al acizilor poleinici, existenți în stroma lipoproteică a globulelor roșii ; transformarea are loc numai în starea de carență a vitaminei E (47).

La nou-născuții prematuri sau subponderali, s-a observat că hipovitaminoza E este însoțită de anemia hemolitică ; conținutul de hemoglobină este 8 g % și reticulocitele depășesc 7%, în raport cu martorii care aveau deficiență tocoferolică, adică aveau 9% hemoglobină și 2% reticulocite. La acești bolnavi, după ce li s-a administrat 200 mg/zi tocoferol per os, timp de 3—4 zile, s-a observat, la interval de 10—14 zile, că reticulocitoza a scăzut de la 8,6 la 3 %, iar hemoglobina a crescut cu 2,5%, ca și numărul de hematii, care s-a ridicat de la 2,8 milioane la 3,7 milioane.

La copiii în vîrstă de 6 luni pînă la 3 ani, care aveau hipovitaminoză și anemie megaloblastică rezistentă la tratamentul cu ciancobalamină sau acid folic, li s-a administrat vitamina E, care a determinat o creștere rapidă a hematiilor, cu normalizarea hemoleucogramei și mielogramei.

Tulburările hematopoetice care apar în hopovitaminoza E se datorează perturbărilor din metabolismul nucleoproteinelor, hemoproteinelor și din metabolismul proteic, provocate de carența de vitamină E.

e. *Organele genitale și embrionul.* Carența de vitamină E duce, la unele specii animale (porc, bovine, cabaline, cîine, cobai), la lezări genitale ; astfel, la masculi apare degenerarea testiculelor cu leziuni ireversibile ale tubilor seminiferi ; spermatozoizii își pierd mobilitatea și se aglutinează, apoi dispar complet, întîi spermatocitele și apoi spermatogoniile.

Aceste leziuni sînt repede curabile dacă se tratează la începutul simptomelor carențiale. De exemplu, la șobolani apar de la a 50-a la a 150-a zi a carenței, iar doza de 0,25—0,75 mg tocoferol înlătură fenomenele. Cînd tratamentul se face mai tîrziu, simptomele sînt ireversibile.

J. Simonnet admite că ireversibilitatea pornește din momentul în care dispar spermatozoizii ; acest stadiu, după unii autori (31), pare să răspundă histologic momentului în care în tubii seminiferi se găsesc plăgi sincițiale.

Scanned with OKEN Scanner

La femeie, în stadiul inițial al carenței, ovarele nu sînt lezate nici morfologic, nici funcțional. La șobolancă, ovulația, fecunditatea, migrarea și implantarea sînt normale, însă evoluția placentară este tulburată.

În stadiul avansat al avitaminozei apar o serie de modificări ale aparatului genital feminin. Musculatura netedă uterină degenerează, apărînd granulații galben-brune în celulele mușchiului uterin. La unele specii de animale, Hessler W. (58) a observat metrite, chisturi ovariene, salpingite.

Chiosa L., Maur N. susțin că nu există nici o diferență între reactivitatea mușchiului uterin provenit de la animale în stare fiziologică normală și reactivitatea mușchiului uterin al animalelor cu avitaminoză (59).

E. Bartley (60) constată o pigmentare crescută cu fibromatoză a mușchiului uterin, în unele cazuri de avitaminoză E. La șobolance s-a observat că, după implantarea oului, începînd cu ziua 12-a de graviditate, acesta este influențat continuu de carența vitaminică. Structura mezodermică se dezvoltă foarte încet și sistemul hematopoetic este mult lezat.

Embrionul este într-o stare de anemie, datorită numărului redus de insule mezodermice, care dispar mai devreme decît apariția funcției hematopoetice a ficatului. Capilarele sînt în număr mic și scurte ca distanță.

Placenta este mică și vasele sanguine mărite apărînd, uneori, hemoragii placentare în secrețiile vaginale, în stadiile timpurii ale gravidității. În a 12-a—a 13-a zi sau chiar mai tîrziu, cînd există o stare de hipovitaminoză, are loc resorbția fătului, care se face lent și care a murit datorită asfixiei și lipsei de hrană. Ele sînt determinate de faptul că insulele mezodermice sînt rare și dispar înainte ca ficatul să aibă funcție hematopoetică. Aceasta are ca urmare faptul că sacul vitelin are un număr redus de vilozități endodermice și creșterea alantoidei este dificilă. Placenta continuă să crească cîteva zile. Acestea sînt determinate de organele hematopoetice și lipsa alantoidei. După resorbția fătului, placenta mai crește încă cîteva zile.

Tabelul 32

Potența tocoferolilor în gestație (61)

Substanțe	Potența comparată cu dl-α-tocoferol acetat
α—tocoferol	149
β—tocoferoi	60
γ—tocoferoi	1—2
δ—tocoferol	1—2
ε—tocoferol	5
ζ—tocoferol	32
ζ_2—tocoferol	52
η—tocoferol	3

În perioada gravidității apare o toxemie care se datorează resorbției parțiale embrionare. Unii autori (61) menționează potența tocoferolilor naturali pe femelă de șobolan, în raport cu acetatul de tocoferol (tabelul 32).

Scanned with OKEN Scanner

În oul de găină cu carență de vitamină E, embrionul se dezvoltă lent și moare către sfîrșitul primei săptămîni, din cauză că hrănirea a fost întreruptă din cauza proliferării celulare din mezoderm (62).

f. *Glandele endocrine.* Animalelor, care prezentau hipovitaminoză E și erau în stare de gestație, li s-au administrat estrogeni, pentru ca sarcina să poată fi dusă la termen, dar s-a observat că, în asemenea condiții, estrogenii nu au avut nici un efect și că fătul a fost resorbit; de asemenea, nici administrarea de progesteron nu poate prelungi gestația la termen, în cazul carenței de tocoferol.

Injectarea, timp de 30 zile, a 50—150 mg/zi de α-tocoferol, la femeile în stare fiziologică normală, în vîrstă de 25—40 ani, nu a afectat excreția de pregnandiol; în schimb, femeilor în menopauză li s-a administrat cîte 60 mg vitamină E, timp de 7 zile, înaintea unei injecții cu progesteron, și excreția de pregnandiol a fost considerabil mai mare decît excreția consecutivă de pregnandiol, atunci cînd nu s-a administrat în prealabil α-tocoferol. Acest fapt se datorează tocoferolului, care împiedică oxidarea progesteronului. Administrarea la mascul a vitaminei E are un efect deosebit, în raport cu stadiul carenței de vitamină și cu stadiul glandelor endocrine.

La animalele hipofizectomizate, vitamina E nu are nici o influență asupra organelor genitale, ceea ce argumentează că vitamina E acționează prin intermediul hipofizei (stimulînd secreția hormonală) asupra activității celorlalte glande endocrine din organism.

B. Adamstone (63) constată că vitamina E întărește acțiunea testosteronului la cocoșii claponizați. Aceasta s-ar datora protecției la oxidare a testosteronului, la fel după cum vitamina E protejează de oxidare și progesteronul.

Experimentările efectuate pe puii de găină au arătat că tironina mărește necesitatea organismului pentru vitamina E. Formarea hormonilor gonadotropi, tireotropi și galactotropi este împiedicată de carența vitaminei E. Aceasta ar explica condiția pentru care unii șobolani tineri au craniul incomplet osificat și cretinism cu tiroidă hipoplastică.

La animalele cu deficiență în vitamină E s-a observat că corticosuprarenalele sînt involuate, iar timusul este mărit.

g. *Sistemul cardiovascular.* Hipovitaminoza E provoacă leziuni în sistemul cardiovascular asemănătoare cu cele din mușchii scheletici, care se manifestă prin insuficiență cardiacă, în special cardiopatie ischemică și tulburări ale circulației centrale și periferice, relevate și prin modificările pletismogramei și encefalogramei.

h. *Alte leziuni*: la rinichi apare, tardiv, o degenerescență a tubilor contorți care, în unele cazuri, sînt chiar distruși; se calcifică labirintul, lezîndu-se organul auditiv, cu simptome de hipoacuzie, ce poate merge pînă la surditate.

Scanned with OKEN Scanner

3.13.4.2. *Hipervitaminoza E.* Starea de hipervitaminoză provoacă tulburări nervoase, insomnii, mialgii ale membrelor inferioare, tulburări ale ciclului, involuția ovarelor și chiar azospermia la bărbați, cînd se administrează zilnic 150—200 mg vitamina E, timp îndelungat.

E. Rousseau și M. Herbert (64) au arătat că, dacă regimul conține în loc de vitamină A, caroteni, acțiunea este binefăcătoare în cazul supraîncărcării cu vitamină E.

Pentru alți autori (57, 65), mari cantități de vitamină E, administrate concomitent cu doze variate de β-caroten, scad rezerva hepatică și renală; în vitamina A ar avea loc o acțiune favorabilă. De asemenea, Lemley M. și col. (66) susțin că rezerva hepatică în vitamina A este crescută dacă, în același timp, se administrează tocoferol timp îndelungat.

Harrill și col. (67) au constatat că administrarea de doze ridicate de tocoferoli au, ca urmare, depășirea nivelului hepatic de rezerve în vitamina A, de la 124 μg/g țesut uscat, la 172 μg/g. Adăugarea de vitamină E în hrană întărește întotdeauna nivelul rezervelor hepatice de vitamină A la animale.

3.13.5. **Corelația vitaminei E cu alte vitamine și efectele farmacodinamice.** Acțiunea vitaminei E se exercită asupra întregului organism, cît și asupra fiecărui organ cu funcții, în parte. Experimentările au demonstrat că în organism există o acțiune de interdependență a vitaminelor; astfel, cercetările efectuate pe șobolani supuși la un regim de carență în α-tocoferol, dar cărora li s-a administrat vitamină A 240 μg Kgcorp, au demonstrat că această doză de vitamină este necesară pentru creșterea animalelor și deci o suplinire a carenței de vitamină E.

Făcîndu-se testul de hemoliză cu acidul dialuric, s-a găsit o deficiență în tocoferol, ceea ce a dus la concluzia că vitamina A nu a avut acțiune de creștere a vitaminei E.

M. Dicks și col. au constatat că concentrația de tocoferoli din țesuturi descrește o dată cu creșterea ingestiei de vitamină A; autorii sînt de părere că alimentația trebuie să conțină cantități de vitamină A și E în raport optim.

Cercetări experimentale (68) pe puii de găină de 2 săptămîni, care aveau o alimentație săracă în vitamina A, dar care conținea 17 mg de acetat de tocoferol/Kgcorp, au demonstrat că la adăugarea de cantități crescute de vitamină A, vitamina E scade rapid în ficat și plasmă.

Alte experiențe (68), în care s-a folosit α-^{14}C-tocoferol, au dus la concluzia că radioactivitatea hepatică scade în raport cu creșterea dozei de vitamină A administrată.

T. Moore și alți autori (69) constată că o deficiență în vitamina E duce la dispariția vitaminei A în ficat; rezervele hepatice de vitamină

Scanned with OKEN Scanner

A se epuizează mult mai rapid în carența de vitamină A și E, chiar și atunci cînd se administrează la animale tocoferol.

E. Edwin (69) arată că există o influență a carenței de tocoferol asupra conținutului de vitamină A în diverse țesuturi (tabelul 33).

Tabelul 33

Relația dintre carența în tocoferol și vitamina A în țesuturi (69)

Țesut	Vitamina A (UI).	
	Regim normal	Regim carențat în vit. E
Inimă	3,8	0,9
Ficat	177,0	148,0
Rinichi	3,6	1,1

G. Hifh observă că adăugarea de tocoferoli într-un regim lipsit de vitamină A, dar care conține caroten, nu modifică sensibil eliminarea prin fecale a carotenului.

G. Weitzel susține că asocierea de vitamină A+E a avut efecte foarte bune, prin acțiunea antiaterosclerotică, studiată pe găini bătrîne sau cocoși tineri cu ateromatoză, provocată prin administrarea de colesterol.

În domeniul creșterii, două fapte concordante, semnalate de Rao D. (70), menționează : a. creșterea șoarecilor, la injecția cu caroten solvit în ulei, variază după conținutul în vitamină E a uleiului ; b. diferențele importante ce apar în creșterea animalelor, care au primit aceeași doză (1 μg), dizolvată în diferite uleiuri (arahide, măsline și nucă de cocos) — se atenuează dacă se adaugă tocoferol la uleiurile care nu-l conțin.

Cercetări îndelungate au precizat că, superioritatea pe care o posedă pentru creștere, asocierile de vitamină A și E, carotenii și vitamină E, față de întrebuințarea vitaminei A singure, este de necontestat.

O serie de autori (71) au constatat, la numeroase specii de animale, că administrarea de vitamină A crește gravitatea carenței de vitamină E.

J. Pudelkiewicz susține că, încărcînd organismul animal cu vitamină A, conținutul de tocoferol din țesuturi și, în special, din ficat este foarte scăzut. La aceeași concluzie au ajuns și alți autori (72), ceea ce are ca urmare faptul că hipervitaminoza A ar provoca o creștere a nevoilor în vitamina E.

In vitro, vitamina E are o acțiune protectoare asupra vitaminei A ; dacă o soluție de axeroftol este expusă la lumină, vitamina A dispare în a 23-a zi, iar dacă este asociată cu vitamina E, dispare în 35 zile. De asemenea, tocoferolii au acțiune protectoare și asupra carotenului, care rămîne stabil (167).

Scanned with OKEN Scanner

La nivelul peretelui intestinal, tocoferolii intervin în transformarea carotenului în vitamina A.

Cantități de caroten (amestec 90% β și 10 % α-caroten) incapabile de a asigura o bună creștere a tineretului, devin eficace dacă li se adaugă 0,5 mg de vitamină E/zi (73).

Experimentările efectuate pe șobolanii tineri în creștere menționează că nevoia de vitamină A este mai slabă dacă se adaugă un exces de tocoferol în hrană (73).

Tocoferolii administrați simultan cu vitamina A antrenează micșorarea și, uneori, chiar dispariția plachetelor de grăsime de la nivelul endoteliului vascular. Injectarea s.c., de 3 ori/săptămînă, a 5 mg tocoferol la șoarecii supuși unui regim excesiv de bogat în vitamina A este incapabilă să corijeze scăderea timpului de coagulare sanguină, antrenat de hipervitaminoză (74).

În privința carenței de vitamină E, experiențele au dus la concluzia că deficitul de tocoferol antrenează o scădere sensibilă a nivelului hepatic de vitamină A (74).

J. Green (75) și col., pe cale experimentală, au găsit că, în cazul carenței de tocoferol, apare o scădere a vitaminei E în următoarea ordine : inimă, ficat, grăsime și, foarte puțin, în mușchiul scheletic și creier.

De remarcat faptul că, într-un țesut, modificarea nivelului vitaminei A nu este paralelă cu cea a vitaminei E.

Tocoferolii prezintă o influență și asupra vitaminei B_1. L. D'Agostino a constatat, la oameni, că o cantitate mare de vitamină E face să scadă rapid tiamina liberă de la nivelul ficatului. În cazul carenței de tocoferoli, la șobolanii cu simptome de distrofie musculară s-au injectat doze de tiamină, care a avut, ca urmare, dispariția distrofiei. D. Holmes și C. Pigott susțin că răspunsul individual la o anumită doză de vitamină B_1 variază cu gravitatea distrofiei.

C. Bomskov și M. Alois (76, 77) menționează că experimentările efectuate pe șobolanii deficitari în vitamina E aveau foarte mare nevoie de vitamina B_1.

Experimentările pe șoarece, în cazul unei carențe duble în vitamina B_6 și vitamina E, și introducerea vitaminei E în regimul alimentar acționează foarte puțin, în timp ce vitamina B_6 mărește mult greutatea animalelor. Adăugarea, simultan, a vitaminei B_6 și a vitaminei E nu acționează mai bine decît vitamina B_6 singură. În ceea ce privește leziunile musculare, a căror gravitate se cunoaște în cazul avitaminozei E, ele ar fi, după Y. Mackenzie, considerabil crescute la șoarece, cînd animalele sînt supuse la o deficiență dublă de vitamină E și vitamină B_6. Intensitatea leziunilor se apropie de acelea observate la iepuri, care aveau carență de vitamină E.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă se ia în considerație *Creatinuria*, care este legată de alterațiile musculare în carența vitaminei E și vitaminei B_6, aceasta a fost găsită la valoarea de 0,04 mg%, iar după vitamina E, creatinina urinară a fost de 0,76 mg %, pe cînd după administrarea vitaminei B_6 singure, creatinina a fost 1,22 mg %.

Administrarea de vitamină C, la animalele cu semne clinice de carență a vitaminei E, a prezentat o acțiune favorabilă ; de exemplu, la șoarece, vitamina E se opune, parțial, la depigmentarea incisivilor. La puii cu deficit de tocoferol (47), tratamentul cu vitamină C are o excelentă acțiune preventivă asupra diatezei exudative. L. Zaccharias (78) a arătat că, dacă se adaugă la regimul de carență în vitamina E, 50 mg vitamina C, păsările nu mai prezintă simptomele carențiale, ceea ce dovedește că vitamina C atenuează simptomele produse de deficitul în vitamină E. De asemenea, tocoferolii administrați la cobai, în doze suboptimale de vitamină C, au produs creșteri importante (19—22%) în suprarenale și în ficat (22—66%).

Acidul ascorbic are o acțiune protectoare asupra simptomelor de carență tocoferolică, după constatările lui H. Dam și I. Cruse. Administrarea la om pe cale orală, cîte 12 mg dl-α-tocoferol, a provocat o scădere a excreției de acid ascorbic, care a atins maximul după două ore de la ingerare. În ceea ce privește hematopoeza, cercetările lui M. Greenberg (79) se referă la regenerarea hemoglobinei la șoarecii anemiați printr-o alimentație potrivită, începînd cu ziua a 12-a. Aceleași cercetări au permis să se constate că această regenerare este totdeauna rapidă, în caz de administrare de vitamina E, vitamina C și fier, decît atunci cînd s-a administrat fierul singur sau vitamina E asociată cu fier.

Prin încercări îndelungate, unii autori (80, 81, 82) au constatat că nivelele de hemoglobină se mențin mai multă vreme de la încetarea aportului de fier, dacă acesta a fost administrat în prealabil în asociație cu vitamina C și E, decît prin asociație cu fiecare vitamină în parte.

Vitamina E are și rol profilactic, în apariția eczemelor în carența vitaminei F.

3.14. Interacțiuni cu unele medicamente

Vitamina E, administrată cu Nitroglicerină, contribuie la a meliorarea crizelor de angor, permițînd reducerea marcată a dozelor de Nitroglicerină (83 —193).

Unele medicamente au acțiune antioxidantă sinergică in vivo cu a tocoferolilor, au proprietatea de a proteja animalele față de unele manifestări ale carenței vitaminei E. Exemplu : antabus (bis dietil-tiocarbamil)-disulfură), folosit în dezintoxicarea alcoolică, protejează puiul de găină față de diateza exudativă, dar nu față de encefalo-

Scanned with OKEN Scanner

malacie, pe cînd acidul ascorbic previne encefalomalacia și diateza hemoragică, dar nu protejează vitamina A hepatică, așa cum o manifestă vitamina E.

Acțiunea albastrului de metilen (clorura de metilthionină) este asemănătoare cu a vitaminei E : protejează animalele de depleția vitaminei A din ficat, cînd acestea sînt carențate în tocoferoli, de peroxidarea grăsimilor, de encefalomalacie, de hemoliza prin aloxan, de diateza exudativă, de sterilitate, dar nu are nici un efect în distrofia musculară, unde vitamina E este eficace (57, 91, 92).

Studii clinice, utilizînd capsule ce conțineau 100 UI vitamină E și 0,5 mg selenit de sodiu, au indicat o reducere a incidenței simptomelor dureroase din angina pectorală (55). De asemenea, vitamina E a potențat acțiunea inflamatorie a selenitului de sodiu sau a compușilor organici de seleniu, în țesutul granulomului la șobolan.

Experimental, s-a observat că animalele (șobolani) pot fi protejate, în proporție de 50%, de apariția necrozei hepatice în condițiile de carență proteică, dacă li se administrează 0,7 μg „Factor 3" la 100 g alimente ; factorul 3 (conține seleniu activ și cisteină) a fost izolat de K. Schwartz, din hidrolizat de rinichi pulverizat ; cînd s-a administrat simultan cu factorul 3 și vitamina E, protecția a fost în proporție de 76% (55). Seleniul are capacitatea importantă de transfer de electroni și protoni, cu participarea la controlul potențialului redox al celulelor. Labilitatea superioară a legăturilor S—Se, comparativ cu legăturile S—S, cît și tendința mare a selenooxizilor de a forma cu molecule de apă grupările $>Se(OH)_2$, precum și reducerea ușoară a Se (IV) la ionul seleniură, Se^{2-}, explică rolul major al transformărilor enzimatice in vivo, catalizate de seleniu, iar acțiunea sa metabolică este aceea a unui antioxidant nespecific, care produce protecția contra peroxidării în țesuturi și membrane, sinergică cu a vitaminei E.

Clarificarea relațiilor care ar putea avea loc între vitamina E, seleniu și coenzima Q (ubichinona) în bolile infecțioase, cardiovasculare, neoplasme și în periodontită, precum și capacitatea vitaminei E de a participa la sinteza ubichinonei, ar contribui la prevenirea sau terapeutica acestor maladii.

Tocoferolii sînt oxidați de : peroxizii acizilor grași, acidul perbenzoic, clorura ferică, azotatul de argint, ozon, permanganatul de potasiu etc.

3.15. Necesarul de vitamine E

La omul adult, necesarul zilnic este considerat a fi între 10 și 30 mg/zi, în funcție de tipul de grăsime din dietă. Dacă regimul alimentar conține acizi grași nesaturați esențiali (vitamina F), într-o cantitate mare, cu atît mai mult cresc necesitățile în vitamină E ale organismului, în-

Scanned with OKEN Scanner

trucît acizii graşi nesaturaţi se oxidează foarte repede, cu formarea de peroxizi, care inactivează o parte din vitamina E din alimente ; acest fapt determină un necesar mai crescut de vitamină E.

Necesarul zilnic de vitamină E mai depinde şi de : sex, vîrstă, stare fiziologică şi fiziopatologică a organismului, de compoziţia hranei, de anotimp şi de medicamentele administrate.

Necesarul în vitamină al sexului feminin este mai mare decît la bărbaţi : în cursul sarcinii, necesitatea creşte progresiv cu vîrsta fătului, ajungînd ca tocoferolemia medie să fie de 1,8 mg/100 ml ser, în lunile 8 şi 9, faţă de 1,25 mg/100 ml ser, existentă în primele 4 luni de sarcină ; de aceea se impune un aport suplimentar progresiv de vitamină E (de la 10 mg/zi la 50 mg/zi), pentru a se duce sarcina la termen şi pentru dezvoltarea normală a fătului, în raport cu starea generală şi de alimentaţie a gravidei.

După naştere, tocoferolemia la mamă este mai mică decît în perioada primului trimestru de graviditate ; mama cedează zilnic, prin lapte, sugarului 8—10 mg vitamină E, ceea ce face ca necesarul vitaminic al mamei să crească (15—30 mg/zilnic) în raport de vîrsta şi alimentaţia sugarului ; la prematuri, necesarul este mai mare faţă de sugarul la termen.

De asemenea, trebuie să se ţină seama, în hrănirea artificială a sugarului, că laptele de vacă conţine o cantitate de tocoferoli de 10—15 ori mai mică decît laptele matern, cu un aport de 0,5 mg/Kgc/zi, ceea ce impune administrarea de 5—10 mg/zi vitamină E, pentru a se evita apariţia edemelor şi a anemiei hemolitice.

Întrucît tocoferolemia cea mai scăzută în perioada anului la ambele sexe este primăvara, se consideră că şi necesarul de vitamină E este mai accentuat în acest anotimp ; de asemenea, la femeile care au avut în antecedente avorturi spontane, se recomandă un aport suplimentar de vitamină E, în mod individualizat.

La persoanele din vîrsta a III-a, ca şi în unele stări patologice : nefrite, maladii cardiovasculare, hipotiroidism, tulburări metabolice, psihonevrotice, hematopoetice, boli neuromusculare, endocrinologice, hiperlipidemii, angină pectorală, oligomenoree, dismenoree, iminenţa de avort, melanom, maladii cutanate etc., cantitatea de vitamină E necesară este indicată la preparatele farmaceutice descrise.

Pentru a se vedea dacă sînt asigurate necesităţile zilnice în tocoferol, se folosesc diferite teste :

1. **testul dietetic** dă o indicaţie aproximativă asupra cantităţilor de tocoferol, existente în alimente (tabelul 34) ;

2. **testul clinic** — avitaminoza E nu apare la om decît la o deficienţă îndelungată, chiar ani de zile, cînd apar semnele clinice, ce sînt

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 34

Vitamina E : % necesar zilnic (adult : 20 mg)* adus de 100 g alimente (după Gounelle modificat) (81)

Sub 10 %	10–25 %	25–50 %	Peste 50 %
Lapte de vacă, iarna 0,4	Unt 11		
Lapte de vacă, vara 0,8			
Brînză 3			
Ouă 5			
Carne de vacă, porc 3	Slănină 10		
Carne de pasăre 1	Sardele 22,5		
Ficat de vacă 7			
Peşte 4			
Pîine albă 1			
Pîine integrală 5	Făină ovăz 10		Germeni de grîu 90
Făină de porumb 8			
Peşte 5			
Legume 1,5	Mazăre verde 22		Soia 94
Praz 9,5	Nuci 24		
Fructe proaspete 1,5		Migdale 26	
	Ulei măsline 20		Ulei de arahide 150
			Ulei germeni de grîu 500
			Ciocolată 55

* Necesarul zilnic de 20 mg, care a servit drept bază a acestor calcule, este considerat, de unii autori, prea mare.

intricate foarte frecvent cu semnele proprii ale senescenţei, făcînd dificilă separarea lor. *Semnele clinice* mai importante sînt :

a. — *sindromul de slăbiciune* şi de distrofie musculară cu diminuarea progresivă a forţei musculare.

b. — *tulburări genitale*, care se manifestă la bărbat prin impotenţă şi atrofie testiculară iar la femei, în special, prin avort habitual sau iminenţă de avort, sterilitate, amenoree, oligomenoree, prurit vulvar, crauroză vulvară, tulburări de climacteriu.

3. *testul biochimic* constă în dozarea vitaminei E serice, şi anume în reducerea sării ferice, care oxidează tocoferolul din serul sanguin, formînd un produs albastru, a cărui coloraţie se măsoară după tehnica Meuier-Vinet (81).

În serul adultului normal concentraţia este în jur de 10 mg/l. Concentraţia sanguină creşte în cursul sarcinii şi este variabilă în raport cu anotimpul. Scade, în general, cînd alimentaţia este săracă în legume verzi,

Scanned with OKEN Scanner

revenind, apoi, în limite normale. S-a constatat o scădere a vitaminei la gastrectomizaţi şi la bolnavii digestivi, din cauza absorbţiei diferite. În hipercolesterolemie şi la bătrîni, concentraţia serică este crescută.

În cazul cînd se constată creatinurie crescută, în distrofia musculară, se impune administrarea de tocoferol ; dispariţia creatinei din urină este o dovadă că hipovitaminoza E, care poate apare înaintea distrofiei musculare (39), s-a înlăturat. Tratamentul cu vitamina E, a formelor de distrofie musculară, a fost făcut, prima oară, de F. Bicknell, care a utilizat extractul de germeni de grîu ; ulterior s-a utilizat acetatul racemic de α-tocoferol, în doze de 20—200 mg/zi, care a dat rezultate valoroase. Cercetările lui Stone, Minot şi Dodd au arătat că, folosind germenii, se ameliorează stările de distrofie la copii ; ei le-au vindecat atunci cînd au asociat la tratament şi vitamina C, ca şi complexul vitaminei B. Se recomandă ca, în timpul tratamentului, să nu se dea în alimentaţie lapte acru, brînză cu miros iute, în schimb, regimul alimentar să conţină pîine integrală şi vegetale verzi.

De asemenea, s-a observat că infecţiile (otita medie, sinuzita, cariile dentare, bolile infecto-contagioase etc.) influenţează negativ tratamentul cu vitamină E, de aceea se recomandă, în aceste cazuri, asocierea cu antibiotice şi sulfamide, pentru un rezultat favorabil.

3.16. Unităţi de activitate

Unitatea internaţională (UI) de vitamină E este socotită cantitatea de 1 mg dl-α-tocoferol = 0,73 mg d-α-tocoferol acetat = 0,81 mg d-α-tocoferol.

În literatură (82, 83) se mai foloseşte şi unitatea şobolan, care reprezintă doza minimă de vitamină E administrată, per os, zilnic, la femelele de şobolan sterile, supuse unui regim carenţat, care provoacă sterilitate prin resorbţia fetilor, determinînd naşteri la aceste animale, din care 50 % nasc cel puţin un pui viu, deci are acelaşi efect specific ca 1 mg α-tocoferol.

3.17. Antivitamine

Cercetările (61, 82, 84) au arătat că substanţele care acţionează similar cu carenţa de tocoferoli, la animale, sînt : *α-tocoferol-chinona*, care produce sterilitate la şoareci, la fel ca şi avitaminoza E ; *p. crezol-acetatul, tricrezil-fosfatul* şi *3,5-wilenolul* acţionează, după cum menţionează Fernardo R., prin efecte toxice, care conduc la o deficienţă de tocoferol.

Printre substanţele care provoacă la animalele de laborator apariţia de simptome asemănătoare cu cele din avitaminoza E, mai sînt citate (39, 80, 85) : piridina, bisulfitul de sodiu, sulfamidele (sulfaguanidina şi sulfatiazolul), acizii graşi nesaturaţi ca şi grăsimile neutre nesaturate.

Scanned with OKEN Scanner

3.18. Vitaminoterapie

3.18.1. Preparatele farmaceutice cu indicațiile terapeutice la om

În țara noastră se folosește uzual **Vitamina E.**

Sinonime: Erevit (RSC), Ephynal-Roche (Elveția), Evion-Merck (RFG), Davitamon E-Organon (Olanda), Tocofarm (R.D.G.).

Vitamina E este prezentată sub formă de fiole, ce conțin acetat de α-tocoferol; fiolele conțin 1 ml soluție uleioasă, ce au 30 mg, 300 mg substanță activă, injectate i.m.; capsule gelatinoase moi, ce conțin 100 mg acetat de tocoferol.

Se folosește în afecțiuni *ginecologice*: prurit vulvar, oligomenoree, dismenoree, menoragie, avort spontan, iminență de avort, sterilitate, tulburări de climacterium, în profilaxia și tratamentul decolări-de placentă, toxicoză gravidică, miopie evolutivă, boală Dupuytren unele anemii la copii.

În asociere cu testosteronul, este indicat la *bărbatul cu sterilitate*, manifestată prin azoo- și oligospermie, criptorhidie.

În asociere cu progesteron și testosteron, este indicată în tulburările de *menopauză*. Se mai recomandă în: *flebite, arterite, angor pectoris, enurezis, hepatită epidemică, paradontoze, reumatism muscular (lombago, torticolis)*.

Se injectează i.m. la adulți 100—200 mg/zi, sau per os, în distrofii musculare comune (pseudohipertrofică Duchenne), distrofia scapulo-humerală juvenilă, distrofia scapulo-humerală Landouzy-Dejerine și a retracției aponevrozei palmare, în colagenoze și fibrozite etc. În afecțiunile neuromusculare, tratamentul este de lungă durată. Se injectează i.m. 50 mg din 2 în 2 zile, timp de 24 zile, în encefalopatii.

La sugari, se administrează 1/4—1/2 drag./zi, sfărîmat și bine amestecat în lapte, sau injecții i.m. 15—30 mg, de 2 ori/săptămînă.

În afecțiunile *dermatologice*: psoriazis 3—4 capsule/zi; acnee, sclerodermie 300 mg/zi, cură îndelungată; ulcer röntgenologic, ulcere varicoase, ca medicație adjuvantă, ca și în epidermoliza buloasă distrofică.

În sclerodermia circumscrisă se utilizează vitamina E, în doze de 300 mg/zi, în cure de 20 zile, cu rezultate importante.

La copiii cu *anemie, reticulocitoză, trombocitoză* și carență de vitamină E, se administrează hrană sintetică, ce conține fier și o cantitate mare de grăsimi (acizi grași nesaturați), precum și 75—100 mg tocoferoli; reticulocitele, trombocitele scad, iar anemia dispare (86).

Regenerarea hemoglobinei este maximă și într-un timp scurt după administrarea simultană a vitaminei E+C+Fe, față de administrarea numai a unuia sau două din aceste medicamente.

Scanned with OKEN Scanner

În prevenirea *bolilor cardiovasculare* considerăm că este util folosirea vitaminei E întrucît, în stările de carență ale acestei vitamine, se înregistrează și alterări ale țesutului conjunctiv, cu afectarea fibrelor de colagen și ale substanței fundamentale, cu creșterea permeabilității vaselor de sînge.

Asocierea vitaminei E cu vitamina C mărește rezistența vaselor sanguine și, totodată, fluxul sanguin, în prevenirea *aterosclezozei*, reduce posibilitatea de formare a trombusurilor, datorită sistemului redox pe care-l conține, mărind totodată și fluxul sanguin. Se recomandă asocierea vitaminei E cu vitamina A, în scopul micșorării colesterolului sanguin și împiedicării depozitării pe vasele sanguine.

Vitamina E este folosită în terapia *diabeticilor*, facilitînd scăderea glicemiei și deci, necesarul terapeutic de insulină se micșorează evident.

În *nevralgia postherpetică*, vitamina E administrată zilnic a dus la înlăturarea completă a durerii (87). De asemenea, rezultate pozitive s-au obținut prin folosirea vitaminei E în *porfirii*, în doze de 10 —400 mg/zi (87).

Studii experimentale au arătat că vitamina E micșorează intoxicațiile cu săruri de mercur (88) și intoxicațiile cu digitală.

În doze de pînă la 2 mg/Kgcorp α-tocoferolul, ca și amestecul de tocoferoli, sînt indicate ca *antioxidanți* (89).

Vitamina E crește activitatea enzimelor de metabolizare a medicamentelor.

Vitamina E nicotinat este folosită în tratamentul *hiperlipidemiei* în doză inițială de 600—900 mg/zi, apoi pentru menținere 300 mg/zi.

Tocpherylquinona (2-3-hidroxi-3, 7, 11, 15-tetrametilhexadecil) 3, 5, 6, trimetil-1, 4-benzochinonă, $C_{29}H_{50}O_3$=446,7 se prezintă ca ulei galben, insolubil în apă, solubil în alcool. Este înrudit cu vitamina E ; folosit în tratamentul *hipertensiunii arteriale*, în maladii *cutanate*, *musculare* și în *psihiatrie*, în prize diferite, ce totalizează 100 — 600 mg/zi.

Vitamina E intră și în compoziția produselor : **Mecopar forte** cpr., **Polivitaminizant S** (30 mg), **Cavit 9** tablete, **Wiplex** draj., **Vitamina E Nicotinate** (Eisai Jap.) ; **Renascin-Merck** (R.F.G.) ; **Tocopherylquinone** ; **Eutrophyl** (Franța) ; **Ipotensil** (Italia) ; **Tensiopres** (Italia) ; **Trimina** (Italia) ; **Vitapressina** (Italia).

3.18.2. **Cerințele calitative pentru folosirea în terapeutică.** Farmacopeea Română, Ed. IX, prevede pentru acetatul de α-tocoferol (α-tocoferolum aceticum ; tocopheryli acetas, acetat de vitamină E), pentru a fi utilizat în terapeutică, următoarele caracteristici : să se prezinte ca o soluție vîscoasă, limpede, galbenă, fără gust și miros ; la lumină se brunifică ; este, practic, insolubilă în apă, ușor solubilă în alcool ; se amestecă în orice proporție în acetonă și uleiurile vegetale.

Scanned with OKEN Scanner

Reacții de identificare: F.R. Ed. IX, menționează că: **a.** 1 ml acid sulfuric, cu 0,005 g substanță dă o colorație verde-gălbuie, iar la adăugarea de acid azotic apare o colorație roșie-brună; **b.** 0,1 g substanță se dizolvă în 1 ml alcool și se evaporă după ce i s-a adăugat o picătură de NaOH 30%; reziduului i se adaugă 1 ml alcool, 2 ml acid sulfuric, formînd la cald acetatul de etil, cu miros caracteristic; **c.** cu soluția de $FeCl_3$, în prezența dipiridamolului, dă o colorație galben-roșie.

Dozare. Determinarea cantitativă a substanței se face astfel: **a.** Polivitaminizant S drag. se dizolvă în alcool absolut, iar extincția se citește la lumina de undă de 285 nm; **b.** vitamina se oxidează cu $AgNO_3$, în soluție de alcool metilic, determinîndu-se absorbția la 265, 292, 300 nm.

Farmacopeea Română (ed. IX) prevede, pentru substanța tocoferol folosit în farmacie, ca aceasta să conțină cel puțin 96% tocoferol.

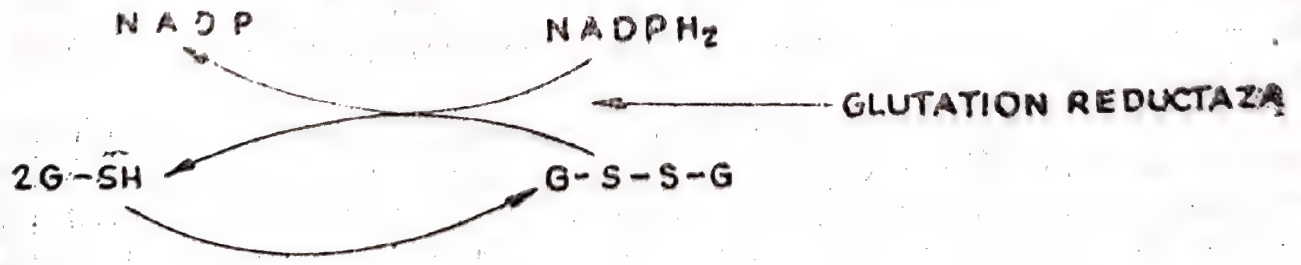
Păstrarea se face în vase închise, ferit de lumină.

3.18.3. **Melanomul și vitamina E.** Melanomul este un produs enzimopatic, datorat excesului de melanină din melanozomii melanoforelor, din citoplasma melanocitului, anabolizată prin cataliza în exces a tirozinazei (21, 90, 91).

Melaninele sînt pigmenți bruni-negri, a căror biosinteză are loc în melanozomi, prin metabolizarea acidului aromatic neesențial, tirozina, datorată cupru-enzimei tirozinaza, care acționează prin transfer de electroni.

Tirozina, în condiții fiziologice normale, se află în stare de activitate moderată, echilibrată, aproape de inactivitate, întrucît glutationul redus blochează cuprul în structura enzimei. Glutationul este un tripeptid (α-glutamil-cistenil-glicol), prezent sub formă redusă (tiolică, cu gruparea -SH a cisteinei libere) sau oxidată (disulfură, G-S-S-G) în toate celulele vii, dar mai ales în celulele proliferative; participă la transportul de hidrogen în reacțiile de oxido-reducere (redox).

$G\text{-}SH \rightarrow G\text{-}S\text{-}S\text{-}G + 2(H^+)$ Glutationul este menținut în organism sub formă redusă datorită acțiunii enzimei glutation-reductaza, ce are drept coenzimă $NADPH_2$, care provine din activitatea G_6-PDH.



Cantitatea de glutation redus descrește în raport cu vîrsta.

Deficitul de glutation redus determină o activitate mărită a tirozinazei la transformarea tirozinei în melanină. Excesul de glutation

redus blochează tirozinaza și, atunci, tirozina nu se mai metabolizează, determinînd apariția maladiei albinism.

Tirozina
↓ ←Tirozinaza
DOPA
↓
DOPACROM
↓
Indol-5-6-chinonă
↓
MELANINA

Activitatea tirozinazei la celula de melanom murin β-16-F-10, cel mai malign, s-a găsit crescută de 1,5-2 ori și a melaninei de 1, 2—5, 4 ori.

A. Holban și col. (1980) au arătat că celulele de melanom de șoarece, Claudman-S-91, deficiente în hipoxantin-fosforibozil-transferaza, la hibridarea cu celule normale, au produs creșterea activității specifice a tirozinei de circa 20—30 ori și a transmis la subclone și la tumorile crescute pe animale acest caracter genetic ereditar.

I. Hearing și col. (1980) au semnalat că fungii transformă tirozina sau DOPA în melanină prin autooxidare sau cataliza tirozinazei.

Tirozin-hidrolaza sau tirozinaza acționează asupra tirozinei, transformînd-o în 3-4-dihidroxi-fenilalanina (DOPA), care apoi se oxidează la dopachinonă ; acesta prin ciclizare trece într-un compus colorat în roșu, denumit DOPACROM (2-carboxi-2, 3-dihidroindol-5, 6-chinonă) care se polimerizează (n) în melanine ce au în structură chinona.

Așa explică L. Enescu (90) de ce în faza incipientă, din cauza dopacromului format, celulele din regiunea unde va apare și se va dezvolta melanomul au o culoare roșietică, care apoi se transformă în brun-cenușiu-negru, datorită formării și creșterii cantitative a melaninelor în granule de melanoproteine, ce formează melanomul.

Precursorul cel mai apropiat al melaninei este indolul, care poate proveni și din metabolizarea aminoacizilor esențiali, fenilalanină și triptofan, care se găsesc în toate proteinele organismului.

Excesul de tirozinază, care duce la formarea de melanine în exces și care a fost găsit de 20—30 ori mai mare în malanom decît în celulele normale, L. Enescu susține că poate fi inhibat prin echilibrarea potențialului redox, cu ajutorul vitaminelor antioxidante : E, C, A, K, ca și cu hidrochinona (90); se va evita astfel, pe de o parte, formarea melaninelor în exces, iar pe de alta, oxidarea altor metaboliți : proteine, lipide etc., care determină inducerea metabolică a melanogenezei, cu participarea factorilor fizico-chimici interni și externi (radiații ultraviolete, hipertermia) (40°C), psoralenele, elementele minerale ce participă reglator la activitatea potențialului redox ; cuprul dublează activitatea tirozinazei, fiind redus Cu^{2+} la Cu^{+} (Oster, 1979).

Radiațiile UV stimulează melanogeneza prin : 1. — lezarea ADN ; 2. — creșterea hormonului de stimulare a melanogenezei (MSH), care stimulează activitatea tirozinazei, dar și biosinteza de noi molecule de tirozinază ; 3. — multiplicarea melanocitelor (Marpurgo și col., 1980).

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, radiațiile UV au stimulat, de 3 ori mai mult ca normal, reacția de oxidare a NADP de melanină, cu funcția chinonică (Cripps și col., 1979).

Enzimele de oxido-reducere, de tip NAD, NADP, FAD, citocromii (a, a_1, a_3, b, c, c_1) ca și ubichinona (coenzima Q_2), cu sediul pe membrana internă a mitocondriei (60% NAD și urme de NADP) și în citoplasmă (NADP), sînt transportori de H_2 și electroni, făcînd parte din lanțul respirator celular.

Enzimele NAD, NADP, FAD, care catalizează oxidarea unor substanțe ca : acidul citric la acid izocitric, a acidului malic la acid oxalacetic, glucoza în acid gluconic, acidul lactic în acid piruvic etc., au un potențial redox electronegativ și sînt primele enzime care vin în contact cu substanțele lanțului respirator.

Perturbarea unei secvențe din mecanismele succesive de reacții de oxido-reducere, din lanțul respirator, produsă frecvent de factorii externi (raze UV, temperatură, substanțe chimice etc.), produce o leziune moleculară (biochimică) tip Gavrilescu-Peters (1931), care va determina o dereglare metabolică, inclusiv pierderea controlului diviziunii celulare.

Cele mai frecvente tulburări se produc în limitele de potențial de la +0,04 V la —0,04 V, în care se găsesc citocromii b_5 și b_6, unele flavoproteine (FAD), Fe^{3+}/Fe^{2+} și glutationul (antioxidant).

Potențialele redox variază în funcție de pH. Pentru o creștere de pH de o unitate, potențialul redox scade cu 0,06 V. În malignitate sînt scăderi de pH pînă la 2 unități ; deci se vor produce creșteri de potențial redox de pînă la 0,12 V, de 3—4 ori mai mult ca diferența din zona labilă (+0,04 — 0,04 V), fapt ce contribuie la apariția malignității.

În melanom, potențialul redox fiind dereglat, se impune reechilibrarea lui cu antioxidanți (hidrochinona, vit. C, E, A, K) care, totodată, evită ca, chinona indolului, din structura melaninei, să oxideze alți metaboliți : proteine, lipide etc., și deci extinderea melanomului.

J. Chavin și N. Abramovitz (1979) menționează că un colectiv de la Universitatea din Detroit, Statul Wayne, SUA, au studiat efectul hidrochinonei asupra melanomului la șoareci, arătînd că inhibă activitatea tirozinazei, a AMPc, a proteinelor, ADN și ARN, fără a semnaliza și explica procesul biochimic.

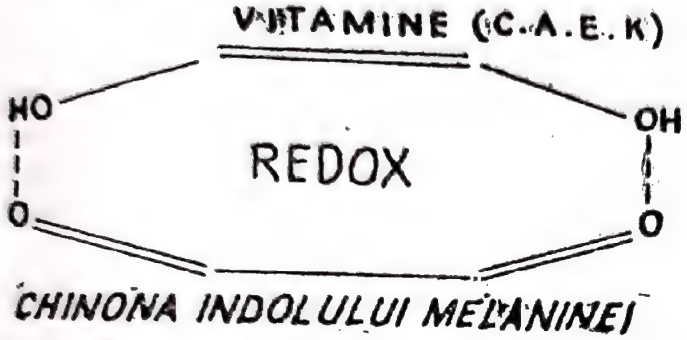
Autorii consideră că hidrochinona și mercapto-etanol-amina, ca agenți melanocitolitici (ca antimetaboliți), „scad preluarea tumorii“ și „cresc supraviețuirea animalelor“ prin acțiunea ADN-ului ; ei nu indică nici o explicație de reechilibrare a potențialului redox al chinonei melaninei (metabolic).

S. Bram și col. (1980) arată că celulele de melanom au fost de 2—10 ori mai sensibile la ascorbatul de sodiu și de —20 ori la ascorbatul de cupru (5 mcM), față de celulele normale.

Scanned with OKEN Scanner

I. Seroculova şi F. Reznik (1979) menţionează că Bacilus subtilis, varietatea Niger K-16, a produs în cultură melanină, iar vitamina C a inhibat această producţie.

L. Enescu consideră că vitamina C, care contribuie astfel la blocarea activităţii tirozinazei, acţionează la fel ca vitaminele E, A, K, prin reechilibrarea potenţialului redox celular, datorită sistemului lor redox (21, 190).



vitaminele E, A, C, K

Chinona indolului melaninei

Gruparea OH liberă a vitaminei E îi imprimă acţiunea antioxidantă, care este în raport invers cu acţiunea vitaminică a tocoferolilor din care face parte ; cel mai sensibil la oxidaţie este δ-tocoferolul, care prin oxidare, ca şi vitamina E, trece în tocoferil-chinonă care, prin reducere, se transformă în tocoferil-hidrochinonă ; aceasta se ciclizează, formînd tocoferolul iniţial. Aceste combinaţii formează sistemul redox al tocoferolilor (fig. 26).

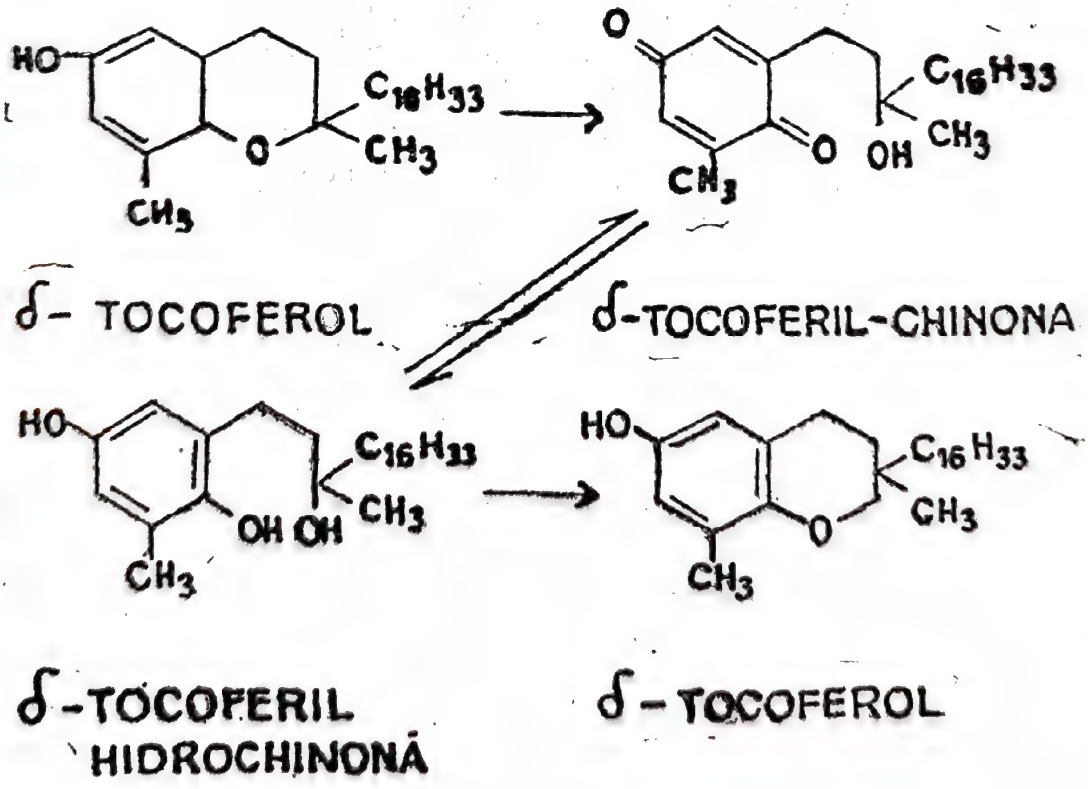


Fig. 26 — Sistemul redox cel mai activ al tocoferolilo r.

Scanned with OKEN Scanner

Tirozinaza mai poate fi inhibată și de alte substanțe, care trebuie introduse în terapeutica melanomului malign (89).

I. Grecu și L. Enescu (55) arată că seleniul are o capacitate mare de transfer de electroni și protoni și participă la controlul potențialului redox al celulelor. Seleniul este implicat și în biosinteza ubichinonei, ce acționează în lanțul respirator.

Asocierea sărurilor de seleniu o considerăm utilă atît la terapeutica vitaminei E în melanom, cît și în dietetica acestei maladii a alimentelor ce conțin seleniu: ficat, rinichi, mușchi —0,5 —1,6 ppm, pește 0,17—0,77 ppm, lapte 1,17—1,28 ppm, ceriale 0,15—1,27 ppm (21, 90).

Dintre sărurile de seleniu, L. Enescu consideră (90) utilizarea acizilor monoselenodicarbonici mai eficace, întrucît pe lîngă acțiunea de echilibrare a potențialului redox al seleniului, se adaugă sinergic acțiunea acidului dicarboxilic, care inhibă tirozinaza și lizează melanocitele, după cum afirmă și Nazzarro-Porro și col. (1979).

Întrucît tirozinaza este o cupru-enzimă, considerăm că o dietă săracă în cupru micșorează posibilitatea formării acesteia și, deci, a melaninelor excedentare. Alimentele cu cantități mici în cupru, sub 0,5 ppm, sînt: laptele și derivatele sale, zahărul, cerealele, pîinea, mierea; cele cu cantități mari de cupru sînt: unele specii de pești, ficat, rinichi, creier, nuci, legume uscate, unele fructe, cacao (20—40 ppm) și se impune a fi interzise pacienților respectivi 44 (90).

N. Caskin și col. (1980) susțin că clorura de sodiu și lactatul de sodiu sînt inhibitori ai melanogenezei. Clorura de sodiu, iaurtul și murăturile sînt de recomandat în dieta bolnavilor (92).

Întrucît zincul este necesar pentru activitatea majorității enzimelor și mecanismelor la care participă NADH (catabolic) și NADPH (anabolic), și care: **a.** fixează substratul; **b.** activează intermediarii; **c.** ușurează transferul de hidrogen la vitaminele C, E, K și hidrochinonă. Enescu L. susține că trebuie introdus în dietetica și medicația antimelanom, mai ales sub formă de lactat de zinc, în care și anionul și cationul inhibă melanogeneza; oul de găină conține 0,7—15 ppm zinc, asociat cu vitelină, iar laptele de vacă 3—6 μg/ml zinc legat, în cea mai mare parte, de caseină (Grecu, Enescu, 1982).

De asemenea, zincul este necesar și enzimei superoxid-desmutaza, care are acțiune anticanceroasă prin protecția pe care o asigură contra radicalului peroxid, ce este distrus în neoplazii și nu mai asigură protecția respectivă.

Zincul intră și în structura insulinei, care în neoplazii este lizată. Zincul este eliminat prin urină în neoplazii de 50 de ori mai mult ca la normali; acest fapt ar putea explica apariția diabetului în anumite faze ale tumorilor maligne (Petrescu, 1982).

Scanned with OKEN Scanner

P. Holnn și col. (1979) au arătat că prostaglandinele PgA_1 și PgA_2 inhibă biosinteza ADN-ului în celulele de melanom și proliferarea celulară, în mod rapid (1 —1,5 ore) și durabil (12 ore), mai bine ca unele medicamente anticanceroase. Aceasta dovedește că există metaboliți cu acțiune antimelanom.

În mitocondriile celulelor ce se vor maligniza, prima leziune biochimică se produce la enzimele acetil-CoA-piruvat-dehidrogenaza și citrat-sintetaza, deci se blochează formarea de acetil-CoA și de acid citric în ciclul Krebs. De aceea, Enescu L. susține că trebuie să se administreze, mai ales în fazele incipiente de malignizare, și medicamente care aduc în metabolism multe grupări acetil cum, de ex., este preparatul Pentaacetilglucoză (Pagosten) asociat cu antioxidante (vitaminele, C, E, A, K și hidrochinonă), lactat de zinc și acizii monoselenodicarbonici.

În serul bolnavilor cu melanom au valori crescute: acidul sialic (7 %), sialintransferaza, α_1-glicoproteina, α_1-antitripsina, haptoglobina și α_2-macroglobulina, care pot fi folosite pentru controlul efectului terapeutic și cu substanțele sus-menționate.

În urină sînt crescute, în cazul melanomului, zincul, putresceina, spermina, substanțele fenolice — în special derivați ai ortodihidroxifenolilor, care sînt în cantități de 13 ori mai mari ca cele normale, în funcție de vîrsta tumorii (Pavel și col., 1979).

3.19. Vitaminoterapia veterinară

Carența vitaminei E la animale provoacă o serie de maladii care pot fi prevenite sau tratate cu vitamina E sau cu substanțe (tabelul 35) care sînt sensibile la oxidare.

În timpul iernii este absolut obligatoriu ca vacilor, în ultima perioadă de gestație, să li se dea alimente bogate în vitamina E (cereale încolțite, oleu de germeni de porumb etc.) sau medicamente cu vitamina E, ca și tuturor nou-născuților — în special viteilor (60).

În combaterea infecundității la vaci, oi, scroafe se asociază vitamina A sau extracte corionice (39, 85): **Prolan** E=200 UI prolan și 30 mg α-tocoferol. Vit. A+E (Turlin) flacoane a 100 ml, cu 100 000 UI vitamină A+ 50 mg vitamina E/ml.

Prezența vitaminei E într-o dietă cu porumb și soia administrată puilor de curcă a micșorat necesarul de seleniu al acestora de la 0,28 ppm la 0,18 ppm (39).

Pierderile produse fătărilor premature sau moartea viteilor au fost complet prevenite prin injectarea vacilor gestante, cu 50—60 zile înainte de fătare, cu un amestec de vitamină E și selenit de sodiu; același amestec a stimulat formarea de anticorpi la iepure (39).

Injectarea vacilor gestante, la 50—60 zile înainte de fătare, cu un amestec de vitamină E și selenit de sodiu, previne complet pierderile produse ale nașterilor premature sau moartea viteilor.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 35

Bolile apărute în carența vitaminei E la animale* (39)

Boala	Animale	Țesut afectat	Prevenire, tratament	
			Vitamina E (196)	Seleniu
Deficiențe în reproducere				
Degenerescență embrionară	Femelă-șobolan, bovine, ovine, găină, curcă	Sistemul vascular embrionar	Asociată cu vit. A Prolan E.	nu
Tip B	Bovine	Sistemul vascular embrionar	Vit. A+E (Turlin)	da
Sterilitate	Șobolan, cobai, cîine, hamster, bovine, ovine	Gonade masculine	Vit. A+E (Turlin)	nu
Organele afectate				
Necroză hepatică	Șobolan, porcine, ovine	Ficat	80—100 mg/zi	da
Hemoliză	Șobolan, pui, om	Eritrocite		nu
Anemie	Maimuță, ovine	Măduvă osoasă	50 mg/zi	nu
Degenerescență renală	Șobolan, maimuță, ovine	Tubii renali		da
Steatoză	Porcine, pui de găină	Țesut adipos, ficat	10—50 mg/zi	nu
Encefalomalacie	Păsări	Encefalul	10—40 mg/zi	nu
Miopatii nutriționale				
Distrofie musculară	Iepuri, cobai, maimuță	Mușchii scheletici	50—600 mg/zi	nu
Tip A	Șoareci, bovine	M. scheletici,		
Tip B	Miel, viței, ied	M. scheletici cordul	60—150 mg/zi	da
Tip C	Curcan, pui, rață.	Cordul		da
Tip D	Pui găină	M. scheletici	10 mg/zi	nu

* Folosirea antioxidanților sintetici a dat rezultate în : degenerescența embrionară, hemoliză și anemie iar aminoacizii cu sulf doar în distrofia musculară tip A.

Semnele clinice ale artritei cronice la cîini și pisici sînt ameliorate prin administrarea de capsule a 70 UI vitamină E, asociată cu 1 mg selenit de sodiu (43). Vitamina E și seleniul a stimulat formarea de anticorpi la iepure.

3.20. Incompatibilități

Vitamina E este incompatibilă cu substanțele oxidante și cu substanțele cu reacție alcalină (hidroliză) (93).

Scanned with OKEN Scanner

3.21. Observaţii

Vitamina E este mai bine resorbită i.m., dacă este solubilizată cu tensioactivi (polisorbat 80), care influenţează permeabilitatea membranelor, favorizînd rezorbţia substanţei active.

Ca antioxidant, Vitamina E se foloseşte în proporţie de 0,01—0,03%, adăugată la uleiuri imediat după preparare.

Administrarea în doze mari şi repetate determină reacţii adverse: la bărbaţi, oligospermie şi azospermie, iar la femei, involuţia ovarelor şi tulburări ale ciclului menstrual; în aceste cazuri se sistează tratamentul.

3.22. Vitamina E în industria alimentară

Cercetările au stabilit că vitamina E poate mări conservabilitatea unor alimente (unt, uleiuri vegetale, şuncă, preparate din carne de porc etc.), datorită proprietăţii sale antioxidante, mai ales dacă se asociază cu acidul citric şi vitamina C, fără a se depăşi însă dozele uzuale, deoarece se poate oxida produsul respectiv şi, totodată, să i se modifice gustul.

Acţiunea antioxidantă a tocoferolilor variază în raport de pH-ul mediului, temperatură, substrat, concentraţie etc.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. EWANS H.M., BISHOP K.S., Science, 56, 650 (1922). **2.** SURE B., J. Biol., Chem. 58, 693 (1924). **3.** STALLA-BOURDILLON B., Industrie chimique, 1, 35, (1970). **4.** GOETTSCH PAPPENHEIMER A.M., J. Exp. Med. 54, 145, (1931). **5.** XXX Society of Chemical Industry — Vitamin E, A. Symposium, London (1939). **6.** VOGT-MÖLLER P., Lancet, 11, 192 (1931) **7.** YOUNG J., — B.J.M., 1, 953 (1937). **8.** SHUTE E., Am. J. Obst. Gynec. 33, 429 (1943). **9.** BICKNELL F., Am. J. Obst. Gynec., 33, 1, 10 (1940). **10.** EWANS H.M., J. Biol. Chem. 113, 319 (1936). **11.** EMERSON A.G., M. MOHAMMAD A., EWANS H.M., Biol. Chem. 122, 99 (1937). **12.** FERNHOLZ E., J. Amer. Chem. Soc., 60, 700 (1938). **13.** STERN M.H., J. Amer. Chem. Soc. 69, 869 (1947). **14.** BAXTER J.G., ROBESON C.D., TAYLOR J.D., LEHMAN R.W., J. Soc., 65, 918 (1963). **15.** GREEN J., MARCINKIEWIEZ S., J. Sci. Food. Agr. 6, 274 (1955). **16.** EGGITT O.H., NORRIS W.F., J. Sci. Agric., 7, 493 (1956). **17.** I.U.P.A.C., Comision on the Nomenclature. J. Am. Chem. Soc. 82, 5 581 (1960). **18.** GERHARD K., Struktur und Synthese von Vitaminen. Acad. Verlag. Berlin (1964). **19.** XXX Documenta Geigy wissenchafthche Tabellen Pharma, Basel (1969). **20.** SOLLE J., SCHULTZ G., Biochem. Biophys. Res. Com., 9, 715 (1979), **21.** ENESCU L., Biochimie. Vitamine liposolubile. Lit. IMF Iaşi (1975). **22.** WARD L.D.N. J. Sci. Food. Agric., 4, 176, 569 (1983). **23.** JAVILLIER M., POLONOVSCHI M., FLORKIN M., BOULANGER P., LEMOIGNE M., ROCHE J., WURMSER R., Traité de biochimie général, Z. II, fasc. I, Ed. Masson, Paris, (1962). **24.** ENESCU L., BAZGAN L., Biochimie medicală-Biocatalizatori, Lit. IMF Iaşi, (1978). **25.** DIAMOND P.S., Laboratory technique Chemistry and Biochemistry D. van Nostrand (1966). **26.** GYORGY P., ROSE C.S., Sci. 108, 716 (1948). **27.** ZINCA S., Biochimie animală, Ed. Did. Ped. Buc., (1971), **28.** PEARSON K.C., LEGGE M.A., Biochem. J., 129, 2 (1972). **29.** MCMAHON T., J. Clin. Invest. 1, 161 (1970). **30.** GALLO-TORRES H.E., Lipids, 5, 359 (1970). **31.** THIERS H., Les vitamines, Ed. Masson.

Scanned with OKEN Scanner

Paris (1956). **32.** MOYER W.T., Pediatries, 6, 893 (1970). **33.** MASON K.E., J. Nutrit., 23, 71 (1968). **34.** BOLLINGER H.R., BOLLINGER M.L., Vitamin E. Atti. Congres Intern. 3 rd. Venezia, 30 (1955). **35.** WISS O., BUNNELL R.H., GLOOR U., Vitamins, Hormones, 20, 441 (1962). **36.** LEMLEY J.M., Amer. Heart. 37, 1 029 (1949). **37.** DABRY M.J., Ann. New-York. Acad. Sci. 52, 328 (1969). **38.** NIKKILA A.E., PELKONEN R., Circulation, 27, 919, (1963). **39.** ENESCU L., Farmacologie veterinară. Ed. Did. Ped. București (1970). **40.** KALUDIN I., J. Inter. Vitamin. 33, 434 (1963). **41.** DAG H., GRANDOS H., PRANGE I., Acta. Physiol. Scand. 18, 161, (1969). **42.** RUMERY E.R., Federation Proc. 10, 392 (1961). 86. Van der KAAN, Ann. New-York Sci. 52, 276 (1949). **43.** WHITING F., LOOSLI J.K., J. Nutrit. 36, 721 (1968). **44.** COUPERUS J., Ztschr. Vitaminforsch. 13, 192 (1963). **45.** KOFLER M., Helv. Chim. Acta, 30, 1 035 (1957). **46.** GONȚEA I., Alimentația rațională a omului, Ed. Did. Ped. Buc. (1970). **47.** CLARK J., Experimental Biochemistry, Freeman (1984). **48.** PETRESCU A., Rev. Oftalmologia, 3, 165 (1983). **49.** SHUNK H., C., ROBINSON M.F., FOLKERS K., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., New York, 8, 100 (1969). **50.** HUI ch., K., J. Vitaminol (Japon), I.C.A., 320 (1966). **51.** ENESCU L., Biochimie medicală, lit. vol. I, IMF Iași (1979). **52.** MOORE T., Nature, 184, 607 (1969). **53.** POPESCU AURORA, CRISTEA ELENA, ZAMFIRESCU MARCELA, Biochimie medicală. Ed. Medicală (Buc.), 1980). **54.** DIPLOK A.T., BUNYAN J., EDWIN E., GREEN J., Brit. J. Nutrit., 16, 109 (1968). **55.** GRECU I., MARIA NEAMȚU, ENESCU L., Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice. Ed. Junimea, Iași (1982). 56. XXXSociety of Chemical Industry— Vit. E. Sympozion, London (1970). **57.** BEDELEANU D., MANTA I., Biochimie medicală. Ed. Dacia (1985). **58.** HESSLER W., Ztschr. Vitaminforsch., 11, 9 (1961). **59.** CHIOSA L., MAUR N., Vitamine și antivitamine. Ed. Med. Buc. (1966). **60.** BARTLEY E., Biochemistry of the Tissues-Willy (1968). **61.** HOCHSTER M.R., QUASTELL A.J., Methabolic Inhibitors. Acad. Press, London 19, 63. **62.** TREMOLIERS J., SERVILE Y., JACQUOUT T., Manuel d'alimentation humaine. Ed. Soc. Fr. Paris (1969). **63.** ADAMSTONE F.B., Arch. Path., 31, 706 (1981). **64.** HERBERT J.M., MORGAN A.F., J. Nutr. 50, 175 (1963). **65.** ROUSSEAU J.E., DICKS M.W., TEICHMAN R., J. Anim. Sc., 16, 612 (1957). **66.** LEMLEY J.M., BROWN R.A., BIRD O.D., EMMET A.D., J. Nutr. 34, 205 (1967). **67.** HAR- RILL T., MINARIK G., GIFFORD E.D., J. Nutr. 63, 129, (1965). **68.** TERROINE T., Les interrelations vitaminigues. Ed. du Centr. Nat. de la Recherce Scientifique, Paris (1966). **69.** EDWIN E.E., DIPLOCK A.T., BUNYAN J., GREEN J., Biochem. J., 79, 91, (1961).**70.** RAO S.D., Nature, 156, 449 (1965). **71.** TOBIN C.E., Arch. Pathol. 50, 385 (1970). **72.** MARCHETTI L., Bioch. Biophys. Acta, 97, 356 (1965). **73.** WITTELBRADN U., Arch. Tierrernähr., 13, 63 (1963). **74.** BACHARCH A. L., J. Pharm. 13, 138 (1960). **75.** GREEN J., DIPLOCK A.T., BUNYAN J., EDWIN E.E., Bioch. J. 79, 108 (1961). **76.** BOMSKOW C., NAUNYN I., Schimedberg Arch., 190, 627 (1958). **77.** ALOISI M., POLANYI V., Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 15, 451 (1960). **78.** ZACCHARIS L., GOLDHABER P., KINSEY V.E., J. Nutr., 42, 359 (1970). **79.** GREENBERG L.,M. TUCKER B.G., HEMING A.E., MATHUES J.K., J. Nutr. 5, 63 (1967). **80.** GRECU I., ENESCU L., Ghidul farmacistului practician. Ed. Med. Buc. (1967). **81.** GAUNELLE H., MARNAY C., Cum interpretăm semnele și testele carențelor vitaminice. Ed. Med. Buc. (1965). **82.** BAQ M.Z., Fundamentals of Biochemical Pharmacology, Pergamon Press, New York (1971). **83.** MEYERS F.H., JAVETZ E., GOLDFIEN A., Farmacologie clinică. Ed. El Manual Moderno S. A. Mexico D.F. (1982). **84.** HOCHSTER M.R., QUASTEL H.J., Methabolic Inhibitors Academic Press, London (1983). **85.** VITAN A., SCHÖBESCH O., ENESCU L., Farmacologie, veterinară. Ed. Did. Ped. Buc. (1967). **86.** MELNHORN D.K., Int. Pharm. Abstr., 12, 995 (1985). **87.** SMITH E.B., Arch. Dermn 108, 254 (1979). **88.** KASMA M., Toxic appl. Pharmac. 32, 347 (1985). **89.** XXX Raport of FAO/WHO, Expert Commitet on Food Additives, Tech. Rep. Servld. Hlth. Org., 539 (1979). **90.** ENESCU L., Biochimie medicală II. Lit. IMF Iași (1978). **91.** ENESCU L., Biochimie, IMF Iași (1979). **92.** KLUGER A., Helvetica chimica acta., 28, 436 (1985). **93.** STĂNESCU V., SAVOPOL E. Incompatibilități medicamentoase Ed. Med. Buc. (1981).

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL 4

VITAMINA F. ACIZI GRAȘI ESENȚIALI

În terapeutică se utilizează Vitamina F, care cuprinde acizi grași nesaturați esențiali.

4.1. Istoric

G. O. Burr și M. M. Burr, în 1929—1930, descriu pentru prima dată boala de carență în grăsimi la șobolani (1).

Această boală a mai fost descrisă și de alți autori : Ewans, Humes, Smedley, McLean și Bernard (cit. 2).

De la început s-a pus problema dacă acizii grași pot fi considerați ca vitamine F. Mult mai interesantă pare să fie problema ridicată de Le Breton, care s-a întrebat dacă acizii grași nesaturați sînt, realmente, esențiali.

Y. Smedley și McLean au confirmat cercetările lui G. Brurr și, prin experimentări, au arătat că și alte specii, în afară de șobolani, pot suferi de aceeași maladie.

Este interesant că la om lipsa acizilor grași esențiali din alimentație provoacă aceleași simptome ca la animale, similare celor observate în avitaminoze, care sînt mai frecvente la copii. În organism, pe lîngă funcția de efector biologic, au rol structural și energetic.

4.2. Nomenclatură și structură chimică

Acizii grași esențiali, care sînt grupați sub denumirea de vitamină F, sînt acizi grași nesaturați. După gradul de nesaturare pot fi clasificați :

A. Acizi grași mononesaturați (monoetenoizi).

B. Acizi grași polinesaturați (polietenoizi) — cu două duble legături, cu formula generală $C_nH_{2n-3}COOH$; ex. *acidul linolic* : $CH_3(CH_2)_4-\overset{12}{C}H=CH-CH_2-CH=\overset{9}{C}H-(CH)_2)_7COOH$ sau C_{18} : 2, 9, 12, prima cifră indicînd numărul atomilor de carbon din moleculă, a doua, numărul legăturilor duble, iar celelalte, atomii de carbon de la care începe legătura dublă ;

Scanned with OKEN Scanner

— cu trei duble legături, cu formula generală $C_nH_{2n-5}COOH$; de ex., acidul linolenic, acidul γ-linolenic și acidul homolinolenic.

$$CH_3-CH_2-CH=\overset{15}{CH}-CH_2-CH=\overset{12}{CH}-CH_2-CH=\overset{9}{CH}-(CH_2)_7-COOH$$ sau $C_{18,\ 3,\ 9,\ 12,\ 15}$ (al-cis-Δ 9, 12, 15-octadeca-trienoic)

Acidul linolenic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=\overset{12}{CH}-CH_2-CH=\overset{9}{CH}-CH_2-CH=\overset{6}{CH}-(CH_2)_4-COOH$$ sau $C_{18;\ 3;\ 6;\ 9;\ 12}$

Acidul γ-linolenic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=\overset{14}{CH}-CH_2-CH=\overset{11}{CH}-CH_2-CH=\overset{8}{CH}-(CH_2)_6-COOH$$ sau $C_{20:\ 3;\ 8;\ 11,\ 14,}$

Acidul homolinolenic

— cu patru legături duble, cu formula generală $C_nH_{2n-7}COOH$; exemplu, acidul arahidonic:

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=\overset{14}{CH}-CH_2-CH=\overset{11}{CH}-CH_2-CH=\overset{8}{CH}-CH_2-CH=\overset{5}{CH}-(CH_2)_3-COOH$$ sau $C_{20:\ 5,\ 8,\ 11,\ 14}$

Acidul arahidonic

4.3. Proprietăți fizico-chimice

4.3.1. Acidul linolic ($C_{18}H_{32}O_2$) este cel mai întîlnit acid dietenic, care se prezintă la temperatura obișnuită ca un lichid incolor, insolubil în apă, solubil în solvenți organici și soluțiile alcaline. Are punctul de fierbere 149,5°C. Maximum de absorbție în U.V. la 190 nm.

Studiile efectuate cu ajutorul spectrelor în infraroșu au găsit că dubla legătură din poziția 9—10 este în configurația cis și aceasta a dus la concluzia că orientarea celor două duble legături este cis, ceea ce s-a confirmat prin studii chimice (3). Prin oxidare cu $KMnO_4$ se formează acidul sativinic, care este un acid tetrahidroxistearic (4).

Rezultatele obținute, atît prin degradarea oxidativă, cît și prin analizele spectrale în infraroșu, au stabilit că structura acidului linoleic linolic este: 9, 12-dicis-octadecadienoic.

Acidul linolic are 18 atomi de carbon și două duble legături C_{9-10} și C_{12-13}; structura sa a fost confirmată prin sinteza chimică. Sinteza (5) a pornit de la condensarea acetilurii de sodiu cu 1,6—dibromhexan, obținîndu-se compusul 1,9-dicadiin, care, supus unei serii de reacții ca

Scanned with OKEN Scanner

bromurare, oxidare, reducere etc., a dus la obţinerea acidului linolic, care este identic cu cel din natură.

4.3.2. **Acidul linolenic** ($C_{18}H_{30}O_2$) este un acid trietenic, care are 18 atomi de carbon şi conţine trei duble legături la C_{9-10}, C_{12-13}, C_{15-16}. La temperatura obişnuită se prezintă ca un lichid incolor, cu punctul de fierbere la 147—148°C terr. Maximum de absorbţie în UV la 175 şi 195 nm. Este insolubil în apă, dar solubil în solvenţi organici şi în alcool.

Se obţine prin cristalizarea din dizolvanţi, la temperatură joasă, a acidului linolenic brut. Acidul brut este izolat din uleiul de in, prin hidroliză. Prin hidrogenare dă acid stearic, iar prin oxidare dă naştere la aldehida propionică, aldehida malonică, acid malonic şi acid azelaic. Prin adiţie de brom dă o hexabromură.

A fost obţinut prin sinteză, pornind de la compuşi acetilenici, dovedindu-se că are configuraţia cis-cis-cis (6).

4.3.3. **Acidul arahidonic** ($C_{20}H_{32}O_2$) se prezintă sub formă cristalină, insolubil în apă, solubil în solvenţi organici şi în soluţii de NaOH şi KOH. Punctul de topire al cristalelor este 77°C.

Are 4 duble legături la C_{5-6}, C_{8-9}, C_{11-12} şi C_{14-15} ; prin oxidare, se formează acizii caproic, acetic, succinic, malonic şi glutaric.

4.3.3.1. *Izolarea acidului arahidonic*

Acidul arahidonic se izolează din grăsimile animale dar, cea mai bogată sursă, este fracţia fosfatid-lipidică din glandele suprarenale ale bovinelor (7). În scopul izolării acidului arahidonic din grăsimi, acestea sînt hidrolizate şi apoi supuse procesului de extracţie cu eter de petrol. Din extractul obţinut se precipită acizii graşi cu acetonă şi, apoi, soluţia este supusă unei cristalizări fracţionate la temperaturi joase. Prin bromurare şi debromurare, precum şi prin distilare pe acid silicic, se obţine, din acizii graşi nesaturaţi, acidul arahidonic.

4.3.3.2. *Sinteza acidului arahidonic.* Sinteza acestui acid gras nesaturat a fost realizată (8) prin condensarea litiu-2-propargil-oxitetrahidropiran cu 1-brom-3-clorpropan, obţinîndu-se produsul 6-clor-1-(tetrahidro-2-piranoxi)-2-hexina. Acest compus, supus hidrolizei, bromurării şi apoi condensării de mai multe ori cu derivaţi Grignard, a dus la acidul tetra-cis-arahidonic, care a fost izolat şi caracterizat, prin absorbţia în infraroşu, ca un ester metilic.

4.3.3.3. *Biosinteza acidului arahidonic.* Experimentările (9 — 11) efectuate pe animale au arătat că administrarea acidului linolic a determinat o creştere a acizilor graşi în organism.

Cercetările ulterioare (5, 11) au demonstrat că acidul linolic este primul precursor al biosintezei acizilor graşi esenţiali, care trebuie să fie adus din mediul extern. Experimentările efectuate pe găini (7) au

Scanned with OKEN Scanner

dovedit că administrarea de 1 — C^{14} — 2-cis-octaenoic în hrană duce la izolarea din ouăle acestora a acidului linolic marcat.

De asemenea, s-a demonstrat (12) că și acidul 12-cis-octadecenoic este un precursor potențial biosintetic al acidului linolic. S-a izolat acid arahidonic la scurt timp de la administrarea în hrana șobolanilor a metil—C^{14}-linoleat (13), din grăsimea de depozit a acestora; analiza acidului arahidonic marcat a arătat că distribuția radioactivității, în cei 18 atomi de carbon, era aceea ca în linoleatul de metil —1— C^{14}, administrat în hrană.

Cercetările ulterioare (14, 15), cu o serie de intermediari radioactivi ai biosintezei acidului arahidonic, prin administrarea în hrana animalelor, a relevat că acidul γ-linolenic este primul intermediar al biosintezei acidului arahidonic din acidul linolic, iar acidul homo-γ-linolenic (8, 11, 14-tricis-eicosatrienoic) este ultimul intermediar.

Verificarea acestor constatări s-a efectuat și prin analiza degradării selective a componenților carbonici, care a arătat că distribuirea radioactivității din produsul de biosinteză era identică cu acidul homo-γ-linolenic, care fusese administrat la animale. Redăm această biosinteză (5, 16):

$$CH_3(CH_2)_4CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-(CH_2)_3-COOH$$

Acidul linolic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-(CH_2)_3-COOH$$

Acidul-γ-linolenic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2(CH_2)_3-COOH$$

Acid homo-γ-linolenic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH)_2)_3-COOH$$

Acid arahidonic

Din evoluția procesului de biosinteză al acidului arahidonic din acid linolic se observă că, în prima etapă, are loc la poziția 6 introducerea unei duble legături, care face să apară astfel acidul γ-linolenic; în a 2-a etapă, la capătul carboxil al acestui lanț se introduc 2 carboni, formîndu-se, astfel, acid homo-γ-linolenic; acest acid, prin dehidrogenare, trece în acid arahidonic.

Scanned with OKEN Scanner

Unii autori (16) consideră că biosinteza acizilor grași nesaturați se poate face fie din acizi nesaturați, pe care organismul animal îl are la dispoziție prin alimentație, fie din acizi saturați, pe care organismul îl are la dispoziție prin procesul de biosinteză al acizilor grași saturați, cînd se pornește de la acetat, la care iau parte derivați ai CoA.

Cercetările in vivo (16) și in vitro (17) au conchis că dublele legături în formula acizilor grași sînt introduse numai în direcția grupării carboxil și într-o relație 1, 4 a legăturilor duble cele mai apropiate. Lungimea lanțurilor se realizează cu ajutorul enzimelor acil-transferaze, care facilitează condensarea acidului nesaturat într-un derivat al CoA, prin gruparea sa carbonil, în grupul metil al acetil-CoA.

Biosinteza acizilor grași nesaturați este asemănătoare cu cea a acizilor grași saturați.

Sinteza completă de novo a acizilor grași cu catenă lungă are loc numai în fracțiunea solubilă a citoplasmei și este catalizată de un complex de 7 enzime, numit complex acid gras-sintetază. Acest sistem enzimatic catalizează reacția generală în care o moleculă de acetil-CoA se condensează cu 7 molecule de malonil-CoA, pentru a forma o moleculă de acid gras.

Puterea reducătoare este furnizată de $NADPH_2$. O singură moleculă de acetil-CoA servește ca punct de plecare ; atomii de carbon metil sau carboxil ai grupării acetil devin atomii C_{15} și C_{16}, iar lanțul crește în timpul sintezei acidului gras, începînd cu gruparea carboxil a acetil-CoA și înaintează prin adăugiri succesive de acetil la ultimul carboxil al lanțului crescînd. Ultimul produs este redus, apoi, de NADPH și formează un derivat β-hidroxi acid gras, care suferă o dehidrogenare în poziția α-β, dînd $\Delta_{2,3}$-acil nesaturat ; în cazul acizilor grași saturați, acesta este, apoi, redus la un rest acil nesaturat, de o a doua moleculă de $NADPH_2$ (fig. 27).

Acest ciclu este repetat de mai multe ori ; de ex., pentru formarea unei molecule de acid palmitic el se repetă de 6 ori.

Procesul biochimic de sinteză are loc și în mitocondrii (18), necesitînd ATP, NADH, NADPH.

Atît esterii acil-CoA ai acizilor grași saturați, cît și ai acizilor grași nesaturați pot să fie alungiți în preparatele microzomiale dar, în această situație, malonil-CoA, mai curînd decît acetil-CoA, servește ca sursă de grupări acetil. Sistemul microzomal folosește NADPH, ca și sistemele mitocondrial și citoplasmatic, ca reducător în direcția dublei legături α—β.

Acizii palmitic și oleic servesc ca precursori ai acizilor grași nesaturați din țesuturile animale. La mamifere și la cele mai multe organisme aerobe, dublele legături sînt introduse de o oxigenază spe-

Scanned with OKEN Scanner

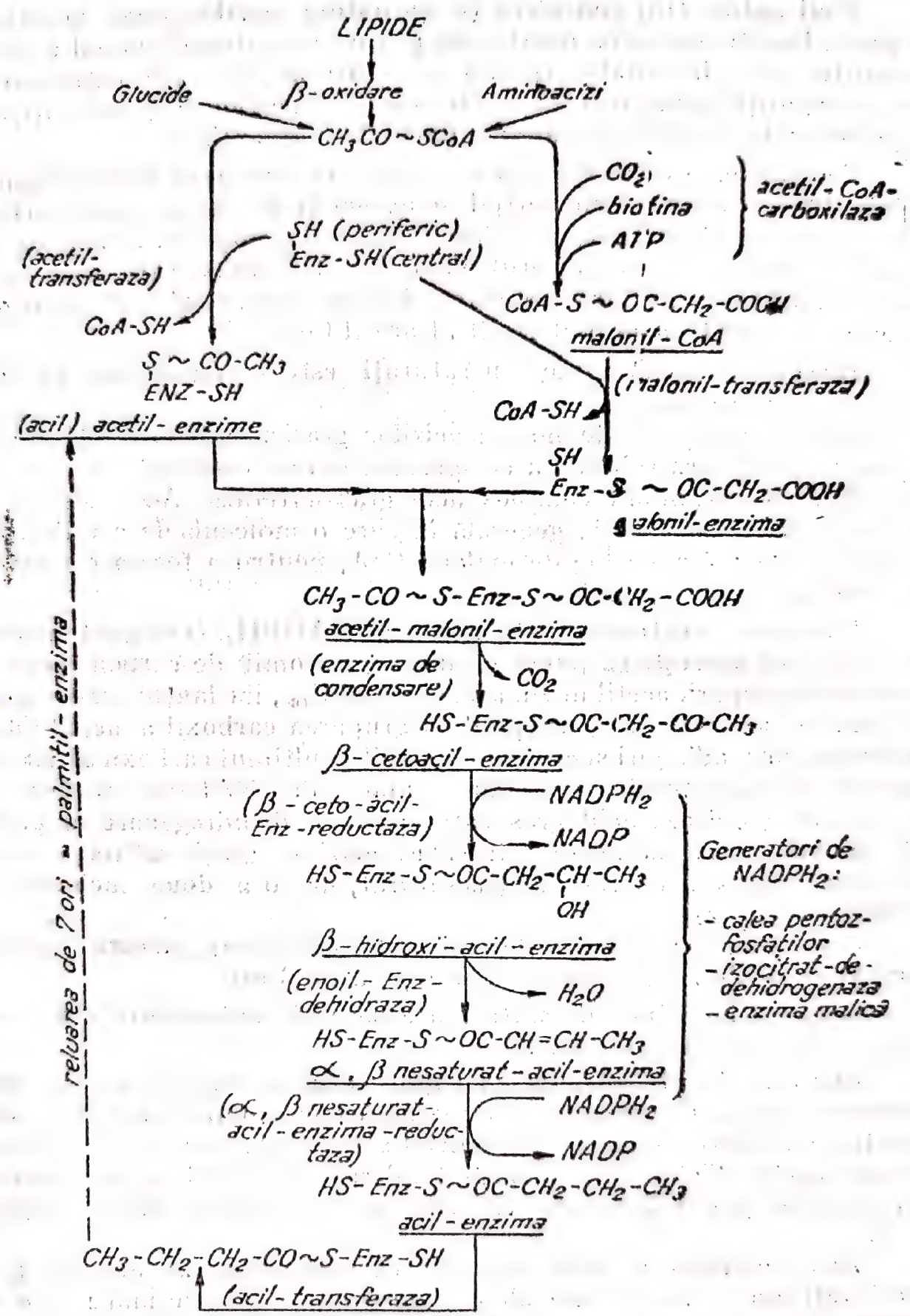


Fig. 27 — Biosinteza acizilor graşi saturaţi.

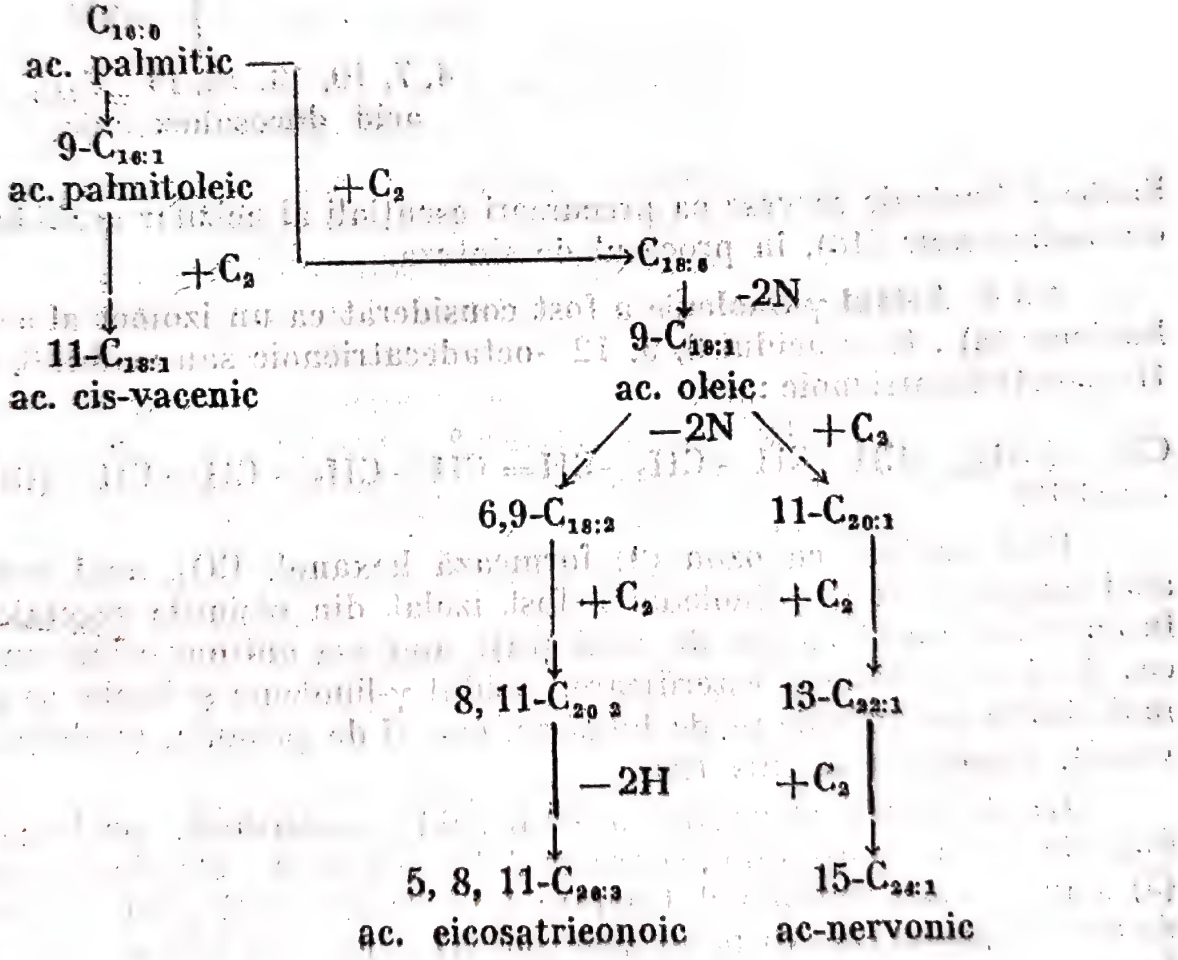
Scanned with OKEN Scanner

cifică, care este localizată în fracțiunea microzomală, în special în ficat și în țesutul adipos.

Cercetările au arătat că o moleculă de oxigen este folosită ca acceptor pentru două perechi de electroni, o pereche provenind de la substratul acil-CoA și cealaltă de la NADPH, care este un coreductant necesar în reacția :

$$\text{Palmitat-CoA} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \rightarrow \text{Palmitoleil} - \text{CoA} + \text{NADPH}^+ + 2H_2O.$$

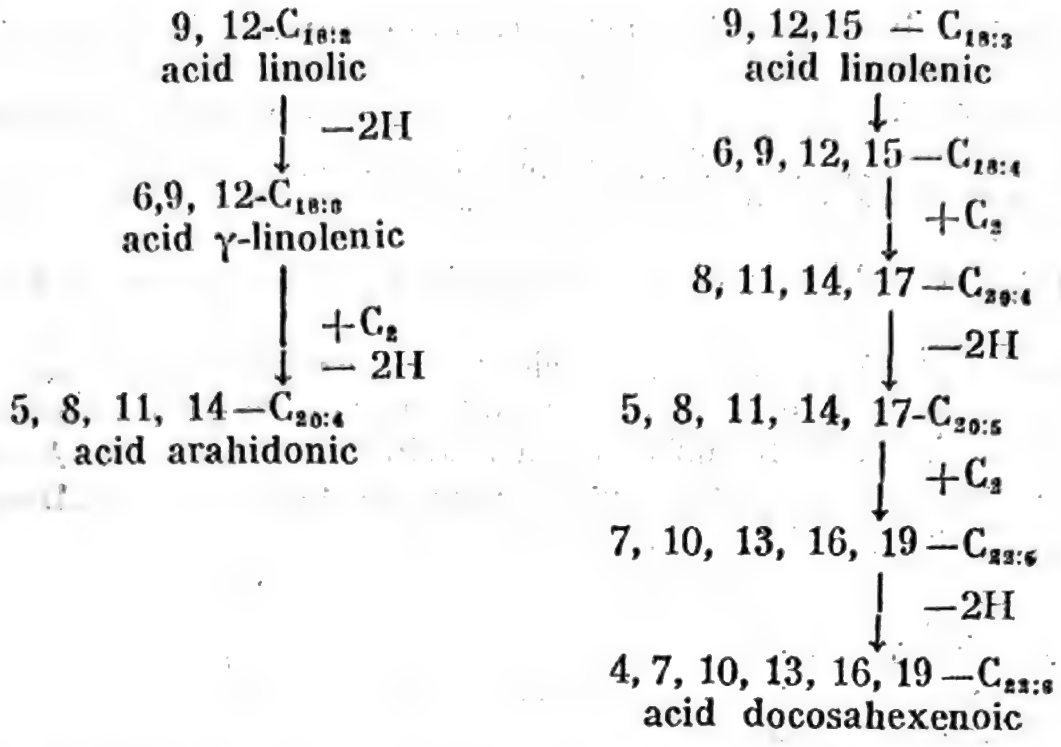
Această oxigenază, ca și altele, care necesită un coreductant ca NADPH, sînt numite oxigenaze cu funcție mixtă. Acest acid, în prezența malonil—CoA, trece în forma esterică a acidului palmitoleic. Acest acid este un precursor al acizilor stearic, oleic, nervonic și eicosatrienoic, în plantele superioare și la animale (18).



Acizii linolic și linolenic nu sînt sintetizați de mamifere ; ei trebuie obținuți din plante și sînt, astfel, numiți acizi grași esențiali, parvenindu-ne cu alimentele, aproape în totalitate, sub formă de trigliceride (19).

La plantele superioare, acizii linolic și linolenic sînt sintetizați din acidul oleic, care suferă reacții aerobe de saturare catalizate, de oxigeneze cu funcții specifice mixte, necesitînd NADPH drept reductant. Acizii

Scanned with OKEN Scanner



linolic și linolenic servesc ca precursori esențiali ai acizilor arahidonic și docosahexenoic (18), în procesul de sinteză.

4.3.4. **Acidul γ-linolenic** a fost considerat ca un izomer al acidului linolenic (8) . Este acidul 6, 9, 12—octadecatrienoic sau acidul 6, 9, 12-tricis-octadecatrienoic :

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=\overset{12}{C}H-CH_2-CH=\overset{9}{C}H-CH_2-CH=\overset{6}{C}H-(CH_2)_4-COOH$$

Prin oxidare cu ozon (9) formează hexanol, CO_2, acid acetic și acid adipic. Acidul γ-linolenic a fost izolat din oleiurile vegetale, prin bromurarea amestecurilor de acizi grași, apoi s-a obținut printr-un proces de debromurare și esterificare. Acidul γ-linolenic și linolic se găsesc mai ales în oleiurile de in, de bumbac, mac și de primula, (ciuboțica-cucului), oenothera biennis (20).

La stabilirea structurii acestui acid a contribuit, pe lîngă produșii de oxidare a ozonului, și procesul de sinteză (9—11). Pentru sinteză (3) s-au folosit : complexul 1-heptin (I), $CH_3(CH_2)_4\ C\equiv CH$ și bromură de etil magneziu (II), formînd 2-octinol (III) care, cu tribromura de fosfor, trece în bromura corespunzătoare (IV). Prin condensarea bromid-2-octinilului, cu compusul Grignard (V) al alcoolului propargilic, se formează compusul 2, 5, 11-decadienol care, supus condensării cu complexul bi-Grignard (VII) al acidului heptinon (VI), formează acidul 6, 9, 19-octadecatrienoic (VIII). Acest acid, supus reducerii în prezența unui catalizator, a dat acidul 6, 9, 12-tricis-octadecatrienoic sau acidul γ-linolenic :

Scanned with OKEN Scanner

$$CH_3(CH_2)_4{\equiv}CH \xrightarrow{C_2H_5MgBr} CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CMgBr \xrightarrow{HCHO}$$

I II

$$\rightarrow CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2OH \xrightarrow{PBr_3} CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2Br \xrightarrow{BrMgC{\equiv}CCH_2OMgBr}$$

III IV V

$$\rightarrow CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2C{\equiv}CCH_2OH \xrightarrow[2)\ BrMgC{\equiv}CCH_2(CH_2)_3COOMgBr]{1)\ PBr_3}$$

VI VII

$$\rightarrow CH_3(CH_2)_4{-}C{\equiv}CCH_2C{\equiv}CCH_2{-}C{\equiv}CCH_2(CH_2)_3{-}COOH \xrightarrow{3H_2}$$

VIII

$$\rightarrow CH_3(CH_2)_4(CH{=}CHCH_2)_3(CH_2)_3COOH$$

acid γ linolenic

4.4. Metodele de dozare

Pentru dozarea acizilor grași nesaturați esențiali se folosesc metodele biologice și fizico-chimice.

4.4.1. **Metodele biologice** indică activitatea farmacodinamică a produsului, iar **metodele fizico-chimice** indică prezența dublelor legături, rezultatele cele mai bune obținîndu-se prin spectrofotometrie în UV și IR dar, mai ales, prin cromatografia în faza gazoasă și în strat subțire. Din metodele biologice distingem :

a. *metode biologice*, care urmăresc *simptomele cutanate* ce apar la lipsa de hrană cu conținut în vitamine F la șobolani, ca și înlăturarea acestora fie prin administrarea în hrană a vitaminei, fie prin aplicarea cutanată a unguentului cu vitamină F ;

b. *metode* care urmăresc modificările *ciclului oestrolic* ce apar la șobolani în perioada de carență vitaminică și înlăturarea acestor tulburări la administrarea acizilor grași esențiali ;

c. *metode* care urmăresc acțiunea de creștere a șobolanilor tineri sub influența vitaminelor F.

Animalele sînt supuse unui regim cu vitamine liposolubile însă fără grăsimi, fapt ce determină, mai întîi, apariția tulburărilor cutanate, apoi încetinirea creșterii animalelor, care devine definitivă după circa 5 luni de administrare a regimului alimentar carențat. Aceste simptome sînt urmărite însă după administrarea vitaminelor F.

La om se folosește, după Gounelle (22), testul clinic și biochimic.

4.4.2. **Testul clinic.** Leziunile tegumentelor apar, cel mai frecvent, sub formă eczematoasă, la sugari. La copilul sub 2 ani s-a observat o scădere a indicelui de iod al lipidelor serice, fără să fi scăzut cantitativ acidul arahidonic.

Scanned with OKEN Scanner

Autorii (22) susţin că *proba terapeutică* are o valoare particulară, deoarece prescrierea în alimentaţie a slăninei, tăiată foarte fin sau trecută prin maşina de tocat, determină retrocedarea eczemelor cutanate, în timp ce, atît uleiul de in, cît şi cel de grîu şi floarea-soarelui rămîn fără efect.

4.4.3. Testul biochimic. Se determină spectrofotometric procentajul acizilor graşi totali, avînd 2,3 sau 4 duble legături, ceea ce indică (tabelul 36) o scădere a acizilor graşi totali cu 2 şi 4 legături duble şi o creştere a acizilor cu 3 legături duble, la subiecţii denutriţi faţă de cei bine hrăniţi.

Tabelul 39

Procentajul acizilor graşi la om (22)

	% de acizi graşi totali		
	Dienici	Trienici	Tetraenici
Subiecţi bine hrăniţi	27,8	1,3	12,7
Subiecţi denutriţi	10,7	2,5	7,5

4.5. Distribuţia în natură

Plantele conţin acizii linolic şi linolenic, iar produsele animale, pe lîngă aceşti acizi graşi esenţiali, mai conţin şi acidul arahidonic.

Tabelul 37

Conţinutul unor produse în acizi graşi nesaturaţi (19)

Produsul	g %
Ulei de seminţe de in	72—83
Ulei de porumb	70
Ulei de orz încolţit	63
Ulei de soia	56—63
Ulei de floarea-soarelui	52—64
Ulei de germene de grîu	44—52
Ulei de seminţe de bumbac	35—50
Ulei de arahide	13—27
Untură de porc	5—11
Seu de oaie	3— 5
Ulei de măsline	4—13
Unt de cacao	2
Margarină	2— 5
Unt	1,9—4
Seu de vacă	1,1—5

Scanned with OKEN Scanner

Procesul de rîncezire, care nu este decît un proces de oxidare, distruge acizii graşi nesaturaţi esenţiali ; ei sînt foarte sensibili la acţiunea aerului atmosferic, suferind foarte repede procesul de rîncezire.

Acizii linolic şi linolenic sînt luaţi de om şi animale, în totalitate, prin alimentele de origine vegetală, sub formă de trigliceride ; acidul arahidonic predomină însă în alimentele de origine animală, fie inclus în fracţiunile fosfolipidice, fie sub formă de grăsimi neutre sau legat de colesterol (tabelele 38 şi 39)

Tabelul 38

Acidul linolic şi linolenic în uleiurile vegetale (21) (% din acizi graşi totali)

Ulei din	Acid linolic	Acid linolenic
nuci	68	3,1—15,8
germeni de porumb	55	—
floarea-soarelui	51,9	—
soia	51,9	3,7
secară	44,2	5
seminţe de in	43,8	30,1
cînepă	41,6	22,8
grîu	39,1	9,6

Tabelul 39

Acidul linolic şi linolenic în grăsimi animale (21) (% din acizi graşi totali)

Ulei din	Acid linolic	Acid linolenic
osînză	5 —6	16
măduvă de bou	2,5	—
ulei de ton, heringi	2	—
seu	1,1—1,5	—
untură	1 —5	
unt	0 —6	1,9—4
lapte de vacă	—	0,15
lapte matern	—	0,39—0,40

Produsele alimentare grase ca margarina, care sînt preparate prin hidrogenarea uleiurilor vegetale sau a uleiurilor animale lichide, au o cantitate mică de acizi graşi esenţiali.

Alimentele care conţin grăsimi şi, mai ales, acizi graşi esenţiali nesaturaţi, în prezenţa aerului suferă transformări care se manifestă

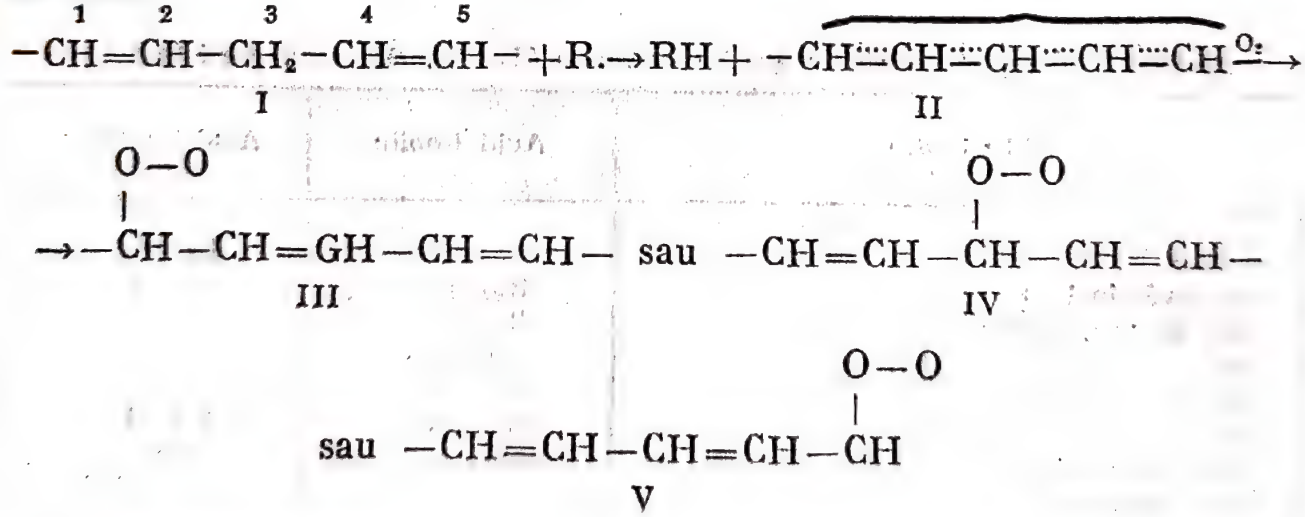
prin creşterea aciditătii şi prin apariţia unui miros şi gust neplăcut — procesul de rîncezire.

Există două forme de rîncezire oxidativă :

a. una este o *β-oxidare*, care are loc sub influenţa enzimelor producătoare de mucegaiuri, a grăsimilor vegetale nerafinate, precum şi a uleiurilor de peşte în stare brută, care sînt bogate în lipaze. În acest proces se formează metil-cetone ($R-CO-CH_3$), care provin prin decarboxilare din acizii β-cetonici, formaţi primar ($R-CO-CH_2-COOH$). Cetonele C_8-C_{12} au un miros deosebit de puternic şi neplăcut.

b. cea mai frecventă rîncezire este prin *autooxidare* a acizilor nesaturaţi ; de ex., esterul etilic al acidului linolic, posedînd duble legături izolate, se transformă, prin autooxidare, într-un produs cu duble legături conjugate.

Datorită mecanismului general al reacţiilor înlănţuite, un radical iniţial provoacă extragerea unui atom de hidrogen din poziţia alilică, care este extrem de reactivă (adică de la grupa CH_2, care se află între cele două duble legături) şi dă un radical liber conjugat (II) de acelaşi tip cu radicalul alil ($CH_2=CH-CH_2\rightarrow CH_2.\leftrightarrow .CH=CH_2$). Acesta se poate lega cu molecula de oxigen în poziţiile 1, 3 sau 5, dînd radicali peroxidici (III, IV sau V). În realitate, poziţiile 1 şi 5 sînt preferate faţă de poziţia 3, deoarece radicalii hidroperoxidici (III) şi (V) conţin duble legături conjugate, spre deosebire de (IV) cu duble legături izolate, iar sîstemele conjugate sînt stabile :



Radicalul peroxidic, (III) sau (V), reacţionează cu esterul acidului linolic la fel cum reacţionează R şi dă un nou radical conjugat (II), continuîndu-se astfel lanţul de reacţii. Totodată, radicalii peroxidici (III) sau (V) se transformă în hidroperoxizi de tipul $R-O-OH$. Aceşti hidroperoxizi se pot rupe termic sau catalitic în cîte doi radicali RO. şi HO ; aşa se explică mersul autocatalitic al reacţiei de autooxidare pe care-l suferă acizii graşi nesaturaţi.

Scanned with OKEN Scanner

Termic $ROOH \rightarrow RO. + HO^-$.

Catalitic $ROOH + CO^{2+} \rightarrow RO. + HO^- + CO^{3+}$; $CO^{3+} + HO^- \rightarrow CO^{2+} + HO$.

Noii radicali formaţi acţionează asupra resturilor de acizi nesaturaţi (RH) prin extragere de hidrogen. Radicalii ce iau naştere se stabilizează, într-o mare măsură, prin dimerizare.

$RO. + RH \rightarrow ROH + R.$

$HO. + RH \rightarrow H_2O + R.$

$R. + R \rightarrow R-R$

Rezultatul este o polimerizare, deoarece o moleculă de glicerid conţine trei resturi de acid superior nesaturat.

4.6. Resorbţia acizilor graşi esenţiali

Resorbţia acizilor graşi nesaturaţi esenţiali se face în acelaşi mod şi urmează aceeaşi cale cu a grăsimilor.

Acizii graşi, aduşi cu grăsimile alimentare de origine vegetală sau animală, ajung la nivelul intestinului, suferă, în parte, o hidroliză datorată lipazei pancreatice.

Bila intervine în emulsionarea vitaminelor F şi în transformarea acizilor graşi în complexe polienice hidrosolubile, care se resorb mai uşor. De asemenea, sărurile biliare, care intră în aceste complexe, servesc absorbţiei lor la molecula de acid gras, pînă în momentul resorbţiei acestuia, după care sînt din nou utilizate pentru alte molecule de acizi graşi. În resorbţia intestinală mai intervine şi procesul de fosforilare, la care sînt supuşi şi acizii graşi, formîndu-se fosfatide de tipul lecitinelor.

De la nivelul intestinului, grăsimile care conţin acizi graşi nesaturaţi ca şi cele care au o proporţie mai mare de acizi graşi saturaţi au două căi de urmat către interiorul organismului.

a. Una este calea vaselor chilifere şi a canalului toracic, deci a limfei, care este utilizată mai ales de grăsimile neutre ;

b. A doua cale este aceea prin care sînt transportate mai ales fosfolipidele şi anume calea venei porte.

Lipidele, prin canalul toracic, ajung la nivelul pulmonului, unde acizii graşi nesaturaţi esenţiali nu prezintă un metabolism specific, iar de aici ajung la ficat.

Experienţele pe şobolani (9, 10) au demonstrat că administrarea în dietă de acid linolic a crescut cantitatea de acid tetranoic din corpul animalului şi, în special, de acid arahidonic.

Cercetările (23) cu ioni marcaţi au arătat că acetatul (^{14}C) formează cu acidul linolic precursorii acidului arahidonic, care se înmagazinează în grăsimile de depunere a animalului (24).

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, metil-^{14}C- linoleat, administrat şobolanilor maturi în hrană, s-a înmagazinat la scurt timp în grăsimea animalului ca acid arahidonic marcat. Stadiile intermediare de transformare, la nivelul ficatului, a acidului linolic în arahidonic au fost arătate la biosinteza acidului arahidonic (25).

De asemenea, la nivelul ficatului se realizează şi una din formele principale sub care circulă în organism acizii graşi esenţiali şi anume aceea de fosfolipid de tip lecitină. Cercetările au demonstrat că aceasta este numai de origine hepatică întrucît, la animalele hepatectomizate, acest fosfolipid nu se mai formează ca, de altfel, toţi fosfolipizii. La nivelul celulei hepatice, prin hidroliza trigliceridelor, se formează colină, fosfaţi şi gliceroli, din care se formează fosfolipidul de tip lecitină. Fosfatidele sintetizate la acest nivel trec în sînge şi de aici în depozitele de grăsimi.

În afară de această formă de fosfatide, care au rol în transportul grăsimilor în plasmă, acizii graşi nesaturaţi sînt transportaţi şi sub forma de esteri de colesterol. Acest proces de esterificare are loc în sînge, după ce lecitinaza a efectuat hidroliza fosfatidelor şi s-au pus în libertate acizii graşi care esterifică imediat colesterolul. Sub această formă esterificată, acizii graşi pătrund în celule şi, deci, în celulele ţesutului adipos. În acest ţesut are loc şi un metabolism al acizilor graşi nesaturaţi esenţiali (acizii linolic şi arahidonic).

În organism, acizii linolic şi arahidonic se găsesc în mod obişnuit, pe cînd acidul linolenic numai dacă s-a administrat în hrană o cantitate mare de acid linolenic. În grăsimile de depozit ale organismului s-a găsit că proporţia de acid linolic este mai mare decît cea de acid arahidonic. De exemplu, la om, proporţia de acid linolic este de 9 : 1 faţă de acidul arahidonic, pe cînd la lecitinele provenite de la bovine raportul este de 1,5 acid lenolenic la 1 acid arahidonic (1,5 : 1).

Catabolizarea vitaminei F, în cea mai mare parte, are loc pe calea β-oxidării şi o mică cantitate conduce la formarea prostaglandinelor (26).

În cazul carenţei de acizi graşi nesaturaţi esenţiali s-a observat că din depozitele organismului acestea scad foarte greu, mai ales la nivelul ficatului; chiar atunci cînd au dispărut din piele, la nivelul ficatului tot s-au găsit cantităţi scăzute, în anumite afecţiuni : eczeme, tumori etc.

Din organism, acizii graşi nesaturaţi esenţiali se elimină prin glandele mamare şi, într-o proporţie mai mică, prin mucoasa tubului digestiv. Laptele uman conţine cantităţi mai mari de acizi graşi nesaturaţi esenţiali decît laptele animalelor.

4.7. Rolul fiziologic

Vitamina F participă la structura membranelor mitocondriale şi a enzimelor respiratorii şi intervine, prin reactivarea intensă a grupărilor metilenice, în oxidoreducerile celulare.

Scanned with OKEN Scanner

Experiențele pe o serie de animale ca șoareci, cîini, șobolani, cobai, găini, iepuri, pisici etc., cărora li s-a administrat hrană fără acizi grași esențiali, au dus la următoarele constatări : majoritatea nou-născuților au o durată redusă de viețuire, iar cei care supraviețuiesc prezintă o marcantă încetinire a creșterii. Se crede că acizii grași nesaturați esențiali intervin ca niște catalizatori în procesul de oxidare al anumitor acizi grași saturați din nucleul celulei.

Experimentările pe șobolani au arătat că cei tineri, în vîrstă de 3 luni, puși la dietă lipsită de grăsimi cu acizi grași esențiali, își încetinesc creșterea, care este reluată după ce s-a adăugat în hrană acizi grași esențiali.

Cercetările au arătat că sînt deosebiri în activitatea acizilor grași esențiali asupra creșterii ; de ex., acidul arahidonic este de 6 ori mai activ decît acidul linolic, iar acidul linolenic are o activitate redusă cu 50% față de cea a acidului linolic.

Lipsa acestor acizi grași din dieta șobolanilor adulți a determinat o subțiere a firului de păr, care cade mai ales în jurul botului și a ochilor, apărînd renumitul semn al ochelarilor ; pe toată coada animalului apar pete hemoragice, iar vîrful cozii devine solzos și rigid, necrozîndu-se. La această specie apare și hematurie la începutul carenței în vitamină F, apoi se instalează insule de necroză și calcifieri în celulele tubilor renali, care formează o cauză a morții animalelor (27—38).

Se crede că aceste fenomene renale survin din cauza unor tulburări metabolice generale, produse de cantitatea mare de proteine care intervine în carența de acizi grași esențiali la această specie, întrucît la alte specii nu apar asemenea leziuni.

Studiile histologice ale pielii animalelor cu deficit de acizi grași esențiali au relevat hiperkeratoză și o îngroșare marcată a epiteliilor de suprafață, mai ales în aria foliculară a părului (27, 28). Dozările chimice, în timpul apariției tulburărilor cutanate locale, au arătat că aceștia sînt într-o cantitate foarte mică în piele în timpul eczemelor, care apar în stările carențiale.

În cazurile cu simptomatologie cutanată, datorită deficitului de vitamină F la animale, aplicarea locală pe pielea acestora a unor unguente cu acizi grași esențiali a dus la vindecare totală. Într-o carență severă de vitamină F, glandele sebacee devin atrofice și degenerate, apărînd eczeme cutanate. O deficiență de acizi grași esențiali a dus la o creștere a acidului palmitic în depozitul de grăsime al organismului (29) și la o creștere a acizilor oleic și palmitic în plasmă (30, 31).

În fig. 26, după E. Holman (4), este redat nivelul, din plasmă și eritrocite, al acizilor grași nesaturați, după administrarea la șobolani a diverselor regimuri alimentare cu unt și ulei de bumbac ; autorii susțin că cel puțin 1% din caloriile din dietă trebuie să provină din acizii grași esențiali, pentru a asigura metabolismul acizilor grași polinesaturați.

Scanned with OKEN Scanner

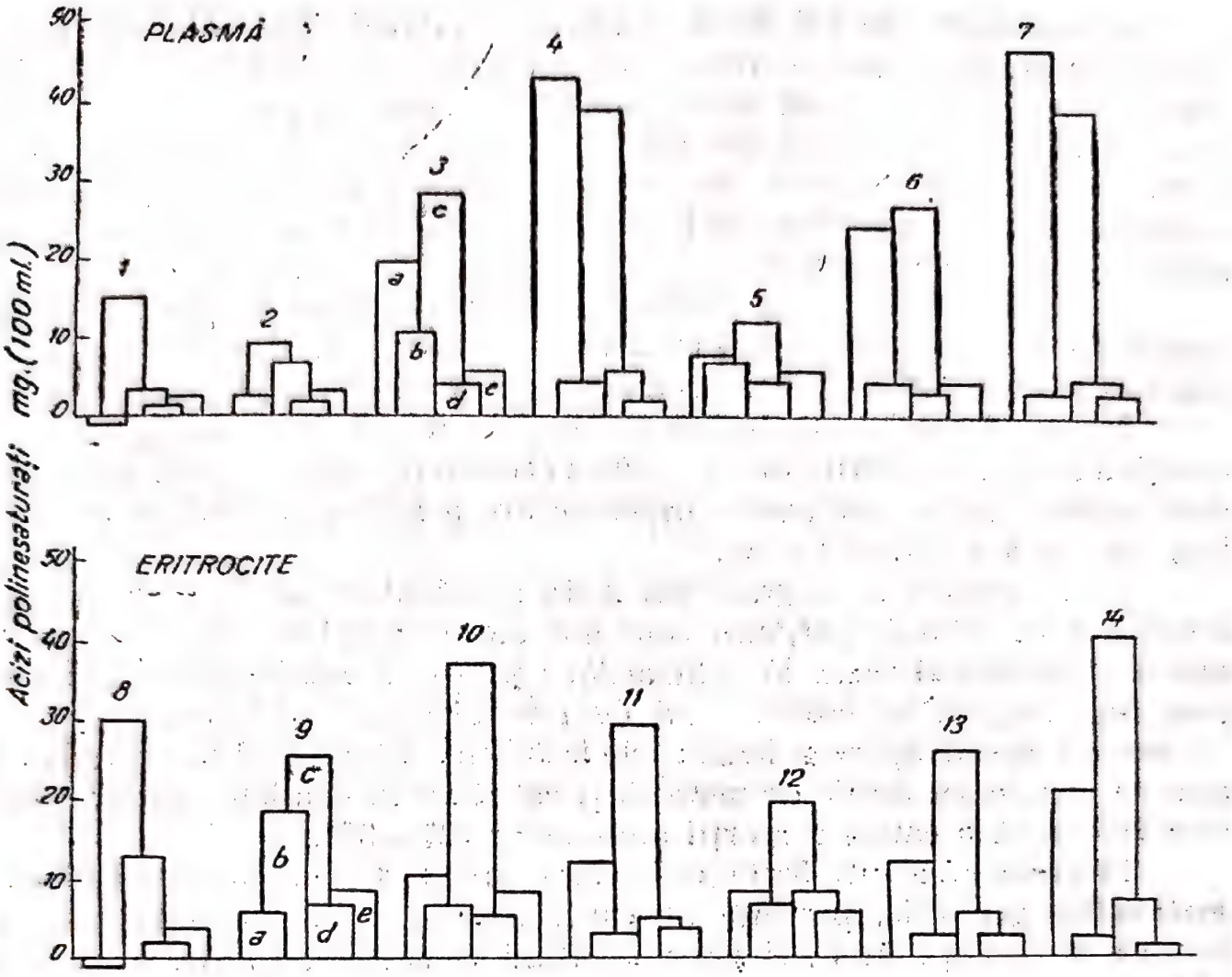


Fig. 28 — Efectul acizilor graşi din unt şi uleiul de bumbac, precum şi al amestecului lor asupra nivelului de acizi polinesaturaţi din plasmă şi eritrocite ; a= acid dieonic ; b=acid trieonic ; c = acid tetraeonic ; d = acid hexaeonic ; 1,8 = acizi graşi liberi ; 2,9 = unt cu acizi graşi în cantităţi mici de acizi graşi ; 4,11 = acizi graşi din uleiuri de seminţe de bumbac ; 5,12 = unt cu acizi graşi în cantităţi ridicate ; 6,13 = amestec de cantităţi de acizi graşi ; 7,14 = ulei de seminţe de bumbac cu cantităţi mari de acizi graşi ; 7,14 = ulei de seminţe de bumbac cu cantităţi mari de acizi graşi.

Tot în experimentările pe şobolani (10) s-a observat că atunci cînd în dietă lipseşte acidul linolic, în sînge, acizii linolic, arahidonic, care predomină la acest nivel, sînt înlocuiţi de alţi acizi graşi (acid docosahexenoic etc.) nesaturaţi, care nu necesită existenţa acidului linolic ca precursor.

O lipsă din hrană a acizilor graşi esenţiali este întovărăşită de o creştere marcantă a cantităţilor de acizi graşi palmitic şi oleic din sînge şi o scădere a acizilor linolic şi arahidonic din plasmă (35—35, 47) ; de asemenea, apare şi o creştere importantă a acidului eicosatrienoic din plasmă, precum şi o creştere mai lentă a acestuia în eritrocite.

În compoziţia grăsimilor din organism, acizii graşi esenţiali intră într-o anumită proporţie, imprimîndu-le acestora o structură specifică, care variază în raport cu specia şi ţesutul respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

Acizii grași respectivi se găsesc în compoziția fosfatidelor, a esterilor de colesterol și a grăsimilor neutre. Raportul dintre diferiții acizi grași ai fosfatidelor și grăsimilor neutre determină caractere fizice și chimice particulare, cum ar fi punctul de fuziune al grăsimii sau indicele de iod.

Acidul linolic se găsește în grăsimile de depozit ale organismului (aproximativ 500g/70kg) (51) într-o proporție mai mare decît acidul arahidonic ; în lecitinele din ficatul de bou reprezintă 45%, iar acidul arahidonic 35% din acizii grași totali.

Experimentările efectuate pe șobolani, cu o dietă care era carențată în acizi grași esențiali, au arătat că în organism, în asemenea condiții, apar: o distribuție anormală de acizi polienoici (10, 34, 35), o viteză sporită a metabolismului bazal și o creștere marcată a retenției de apă, precum și o descreștere pronunțată a eliminării de urină (1, 36, 37).

Carența de vitamină F mai influențează și aparatul sexual. La unele femele animale s-a observat o anovulație, iar la altele ovulație neregulată. La acestea din urmă, perioada de gestație este mărită și o parte din feți mor ; cei care se nasc au o viabilitate mică și sînt subdezvoltați, iar lactația este deficitară ; la mascul apare atrofia testiculară cu azospermie, întrucît celulele germinative sînt degenerate.

Carența vitaminică produce tulburări gastro-intestinale cu hepatosteatoză, degradarea cartilajelor de conjugare și fragilitatea capilarelor. Activitatea acizilor grași nesaturați esențiali s-a dovedit a fi în strînsă legătură numai cu prezența dublei legături în $C_9—C_{10}$ și $C_{12}—C_{13}$, în cazul acizilor linolic și linolenic. De asemenea, prezența celor 4 duble legături ale acidului arahidonic îi imprimă acestuia activitatea fiziologică, pe cînd gruparea carboxilică, dacă este esterificată sau înlocuită cu o grupare alcool, nu produce nici o modificare esențială fiziologică (35—38).

4.7.1. **Vitaminele F și prostaglandinele.** Concomitent, S. Bergström și col. (39), A. Drop și col. (40), în 1960, au arătat că acidul arahidonic poate fi transformat, de homogenate de vezicule seminale de berbec, în prostaglandinele PGE_2 (fig. 29), și au sugerat că și alte prostaglandine (PGE_1, PGE_3) ar putea fi formate printr-un proces similar din precursorul imediat al acidului arahidonic, acidul homo-γ-linolenic (acidul cis-eicosa-8, 11, 14-trienoic) și, respectiv, acidul cis-eicosa-5, 8, 11, 14, 17-pentaenoic (fig. 30, 31). Deci, din 1960, s-a edificat legătura care există între vitaminele F și prostaglandine.

Denumirea de prostaglandine a fost desemnată de Euler în 1935—1936, care totodată a sesizat pentru prima oară că principiul activ dintre extractele omogenate de țesuturi este de natură lipidică. Mecanismul de transformare al vitaminelor F în prostaglandinele PGE_1, $PGF_1\alpha$ are loc

Scanned with OKEN Scanner

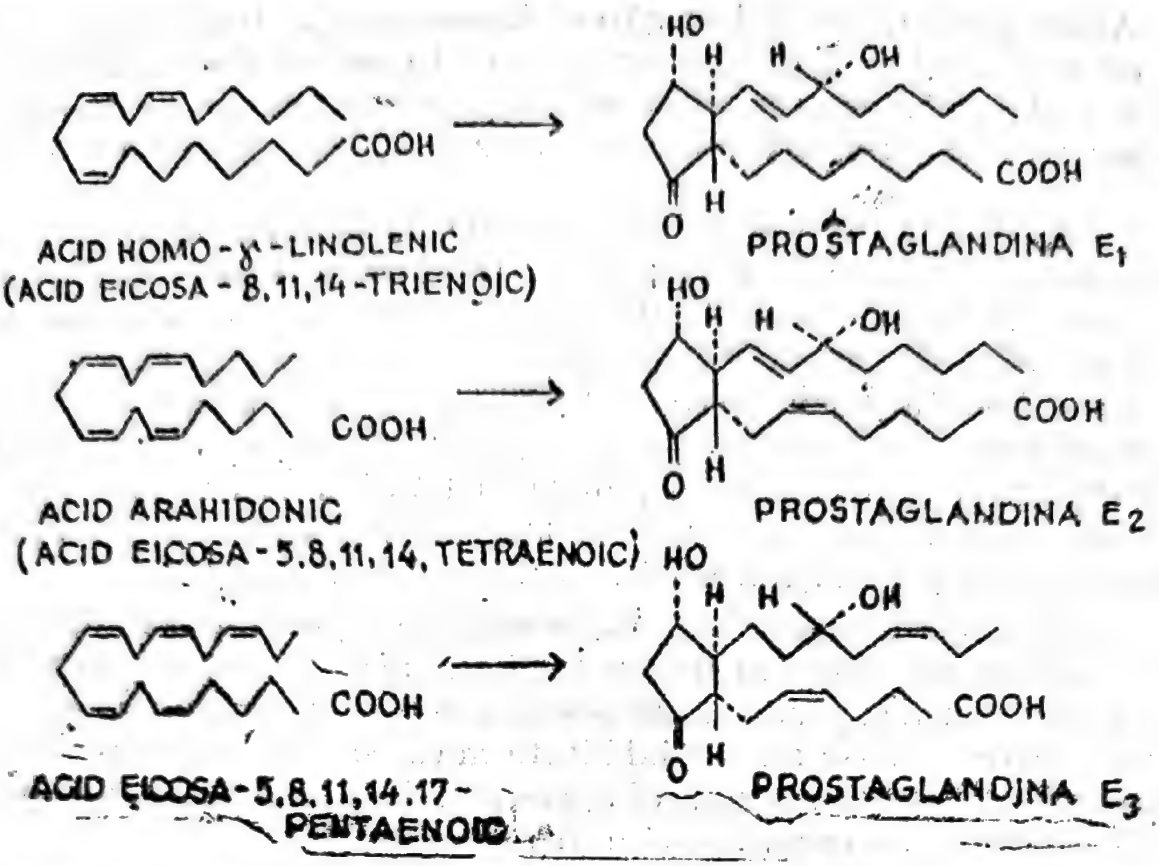


Fig. 29 — Vitamina F precursoare a prostaglandinelor din seria E (52).

în două etape : în prima, din acidul homo —γ-linolenic se formează acidul 11-peroxieicosa-8, 12, 14-trienoic, prin înlăturarea steriospecifică a unui atom de hidrogen de la C_{13} și inducerea unui atom de oxigen la C_{11} (fig. 30 I—II) ; în a doua etapă (fig. 30, II, III) se formează un compus ciclic (endoperoxid) prin fixarea la C_{15} a unui atom de oxigen, izomerizarea dublei legături de la C_{12} și formarea unei legături C—C între C_8 și C_{12} și atacul radicalului oxigen al C_9. Endoperoxidul format (III) este un precursor direct atît pentru prostaglandinele din seria E, cît și pentru cele din seria F.

De asemenea, s-a stabilit că acidul arahidonic liber, cît și cel din vitaminele F, prin incubație cu homogenat de vezicule seminale de berbec, în prezența p-mercuri benzoatului se transformă în doi endoperoxizi lipidici instabili PGG_2, PGH_2, care se transformă rapid în țesuturi în PGE_2, PGF_2 și PGD_2 (fig. 31). Intermediarii endoperoxidici au următoarele proprietăți : agregarea rapidă și ireversibilă a trombocitelor umane și contracția mușchiului neted respirator și vascular. În endoteliu vascular PGG_2 și PGH_2 sînt transformați enzimatic în PGX, PGI_2 sau prostaciclină, care este instabilă, transformîndu-se în 6-oxo-$PGF_1\alpha$. Enzima care convertește endoperoxizii prostaglandinici, PGG_2 și PGH_2, în PGX, este o oxiciclază, care se găsește din abundență în mucoasa gastrică, ca și în alte țesuturi.

Scanned with OKEN Scanner

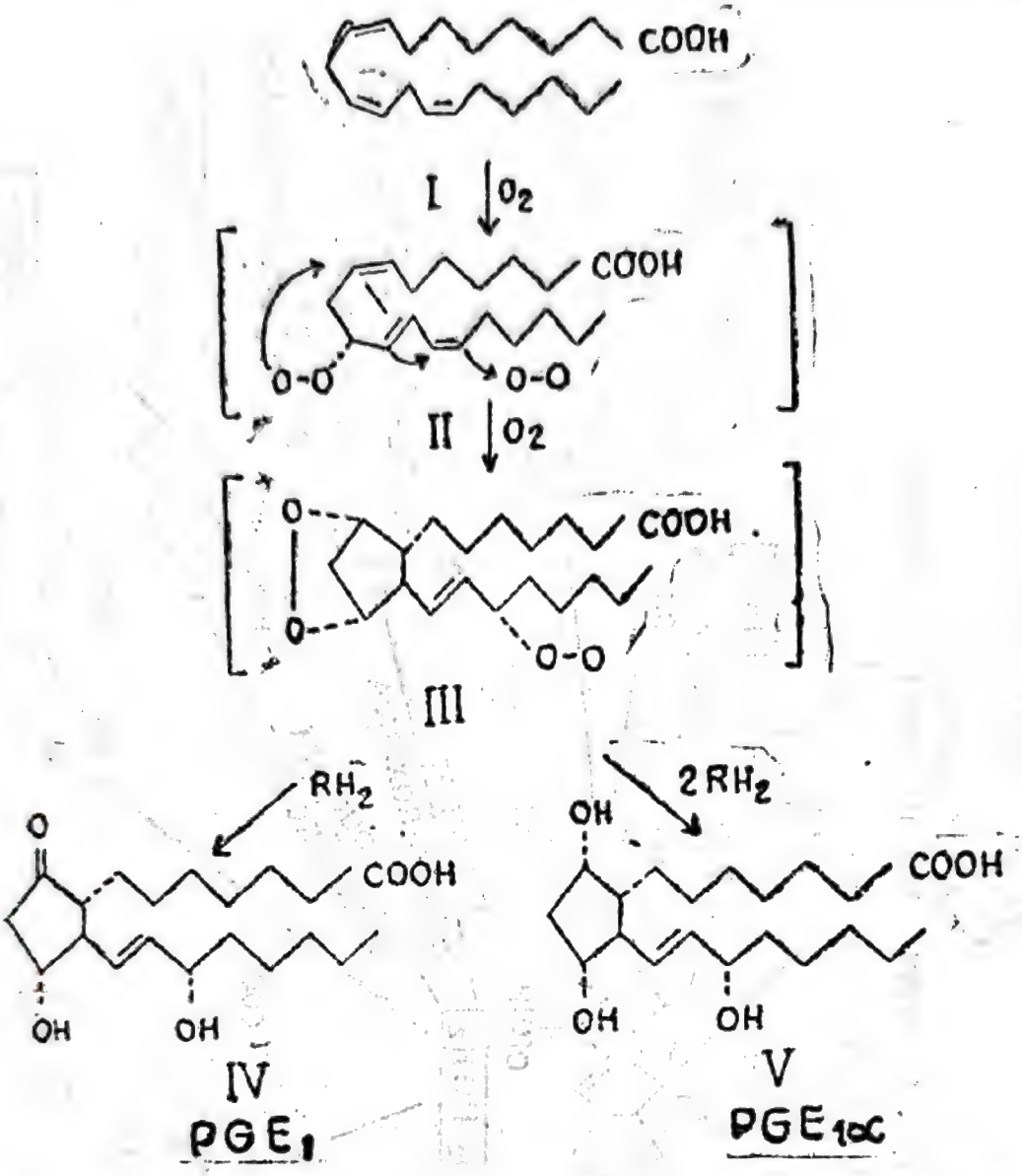


Fig. 30 — Mecanisme ale biosintezei prostaglandinelor din acidul homo — γ — linolenic.

Prostaglandinele se mai sintetizează, în afara căii endoperoxizilor lipidici, și prin altă cale metabolică de tip lipoxigenazic, care duce de la acidul arahidonic la acidul 12-L-hidroxi-eicosa-5, 8, 10, 14-tertraenoic (HETE). Această cale metabolică nu este inhibată de aspirină sau de indometacin, cum se întîmplă în cazul celeilalte căi metabolice, dar este blocată de derivatul acetilenic al acidului arahidonic. S-a constatat că acidul arahidonic accelerează agregarea trombocitelor umane in vitro și produc in vivo o agregare violentă a trombocitelor de iepure și, dimpotrivă, acidul homo-γ-linolenic previne efectul trombozant al acidului arahidonic, iar acidul linolenic are efect antitrombotic (41).

În afară de HETE, trombocitele mai transformă din acidul arahidonic un derivat hemiacetalic al acidului 8-(1-hidroxi-3-oxopropil)-9, 12,

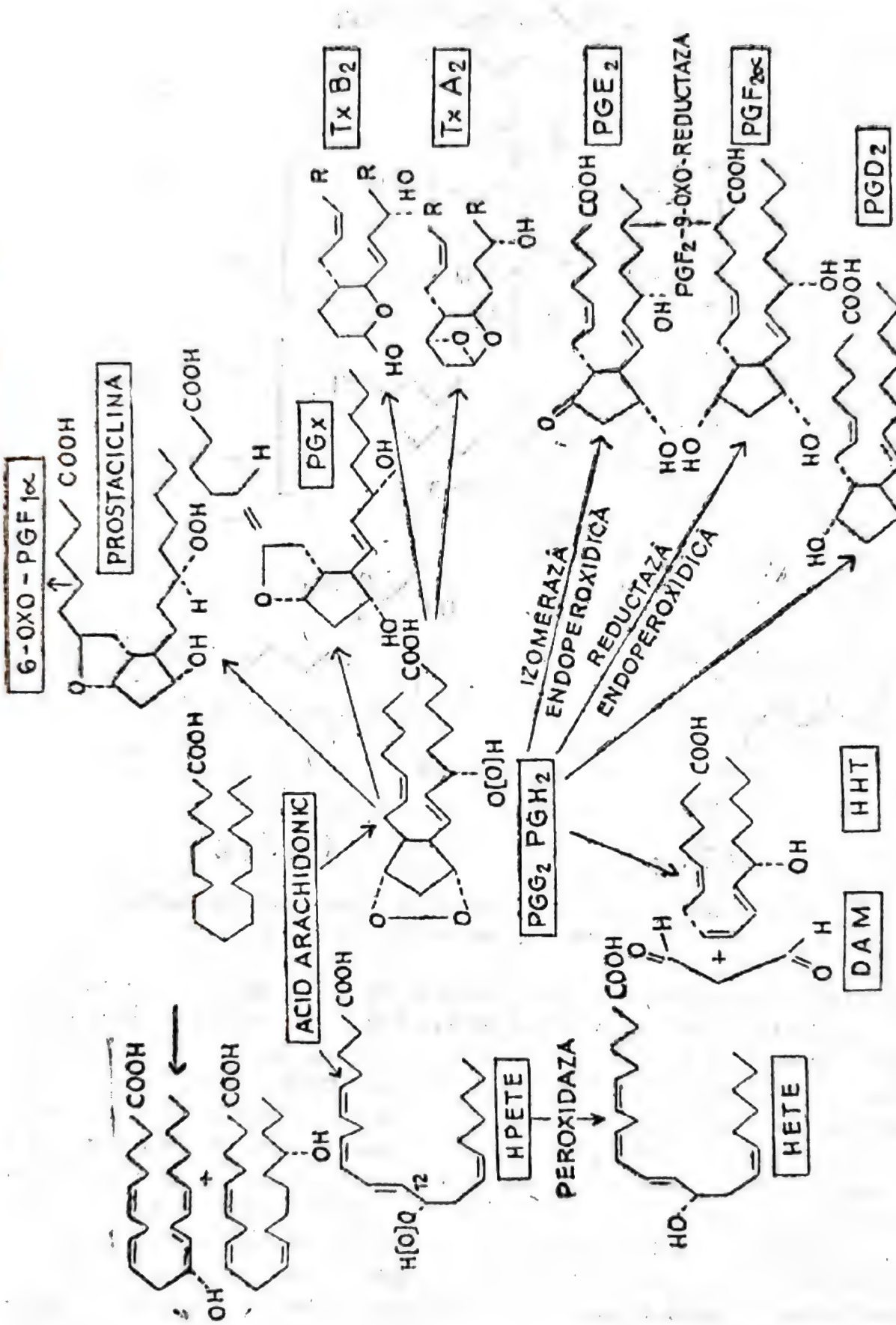


Fig. 31 — Biosinteza prostaglandinelor din acidul arahidonic (schema procesului modificată după Păuşescu, Pike, Terragno).

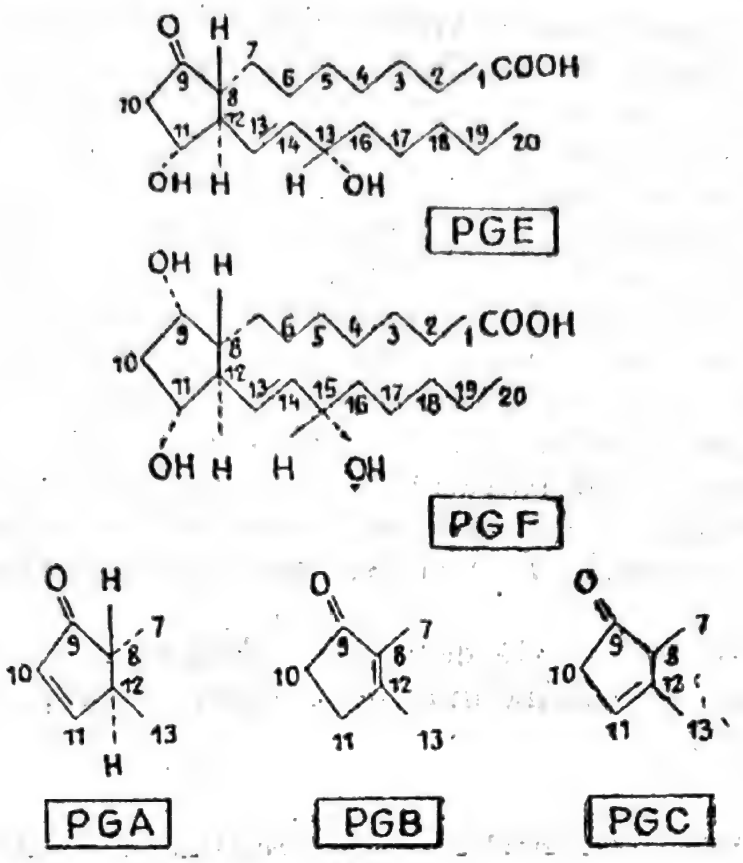


Fig. 32 — Diferențele esențiale de structură chimică între PGE, PGF, PGA, PGB, PGC.

L-dihidroxi-5, 10-heptadecadienoic, denumit inițial PHD și, ulterior, *tromboxan* B_2 (TxB_2) (42).

Pînă acum au fost izolate cel puțin 16 prostaglandine, care au fost repartizate în 6 serii (conform funcției chimice din jumătatea ciclopentanică a structurii lor), desemnate cu literele E, A, B, F, C și D. În aceste prostaglandine „naturale" s-au adăugat, între timp, alte prostaglandine produse prin sinteză chimică. Seriile se caracterizează astfel: seria PGE prin existența grupării carbonil la C_1 și grupării hidroxil la C_{11} și C_{15}; seria PGE prin grupări hidroxil la C_9, C_{11}, C_{15}; compușii din seria PGA sînt $\Delta_{10,11}$ — analogi obținuți prin eliminarea apei din PGE, în timp ce cei din seriile PGB și PGC reprezintă $\Delta_{8,12}$ —izomeri și, respectiv, $\Delta_{11,12}$ — izomeri ai celor din seria PGA (fig. 32). Cifra care însoțește litera de serie indică numărul de duble legături din lanțurile laterale. De exemplu, PGE_1 are o dublă legătură în poziția trans $C_{13}—C_{14}$, iar PGE_2 are două duble legături între $C_{13}—C_{14}$ și în poziția cis $C_5—C_6$; pe cînd PGE_3 are în plus o a treia dublă legătură în poziția cis $C_{17}—C_{18}$. De asemenea, însemnele γ și β în nomenclatura prescurtată desemnează configurația substituentului de la C_9 în jumătatea ciclopentinică, cu aceeași semnificație pe care o au aceste însemne în nomenclatura steroizilor:

Scanned with OKEN Scanner

γ = în jos, β = în sus. Prostaglandina naturală $PGF_{2\alpha}$ are un α-hidroxil la C_9, realizînd un sistem diol cis la C_9 și C_{11} (fig. 35), în timp ce prostaglandina care nu se produce natural, PGF_2, are un α-hidroxil la C_9, realizînd un sistem diol trans la C_9 și C_{11}.

În afară de această nomenclatură, Andersen a propus un sistem de nomenclatură al prostaglandinelor bazat pe configurația lor stereochimică. Astfel: configurația pozițiilor C_9, C_{11}, C_{15}, din moleculele prostaglandinelor, sînt desemnate între paranteze prin α sau β, indicînd gradul de nesaturație al tipului respectiv. Atunci cînd nu este necesară nici o indicație de conformație moleculară, însemnele propuse în această nomenclatură sînt K, pentru oxo- Δ-pentru dubla legătură și pentru lipsa de substituent. Cînd lanțurile laterale au orientare cis, atunci se desemnează cu prefixul izo- la expresia prescurtată a epimerului C_9. Formele antipodice și racemice au fost desemnate prin prefixele ent- și, respectiv, rac—.

În tabelul 40 este redată denumirea chimică și prescurtarea lor în sistemele de nomenclatură ale unor importante prostaglandine (41, 43),

Tabelul 40

Denumirile chimice ale unor prostaglandine și prescurtările lor în diferite sisteme de nomenclatură (41, 43)

Denumiri uzuale	Prescurtări în nomenclatura lui Bergström	Denumiri chimice	Prescurtări în nomenclatura lui Andersen
Prostaglandină E_1	P G E_1	Acid 11α, 15α-dihidroxi-9-oxo-13-trans-prostenoic	P G (Eαα)1
Prostaglandină E_2	P G E_2	Acid 11α, 15α-dihidroxi-9-oxo-5-cis-13-trans-prostadienoic	P G(Eαα)2
Prostaglandină E_3	P G E_3	Acid 11α, 15α-dihidroxi-9-q-oxo-5,13,17-prostadienoic	P G(Eαα)3
Prostaglandină $F_1\alpha$	P G $F_1\alpha$	Acid 9α, 11α, 15α-trihidroxi-13-trans-prostenoic	P G (βαα)1
Prostaglandină F1β	P G $F_1\beta$	Acid qβ, 11α, 15α-trihidroxi-13-trans prostenoic	P G(βαα)1
Prostaglandină $F_2\alpha$	P G $F_2\alpha$	Acid qβ, 11α, 15α-trihidroxi-5-cis-13-trans-prostadienoic	P G (ααα)2
Prostaglandină $F_3\alpha$	P G $F_3\alpha$	Acid qα, 11α, 15α-trihidroxi-5, 13 ,17-prostatrienoic	P G (ααα)3
Prostaglandină A_1	P G A_1	Acid 15α-hidroxi-q-oxo-10, 13-trans-prostadienoic	P G(AΔα)1
Prostaglandină B_1	P G B_1	Acid 15α-hidroxi-q-oxo-8 (12), 13-trans-prostadienoic	P G(B—α)1

Scanned with OKEN Scanner

Vasta literatură științifică care, în ultimii ani, a dus la o explozie informațională, indică atît diversitatea de acțiuni biologice ale prostaglandinelor, cît mai ales implicarea lor în patologie și terapeutică.

Dintre efectele biologice amintim succint :

A. *Asupra sistemului nervos central.* În funcția sistemului nervos central prostaglandinele intervin formînd aproape un flux identic aceluia al catecolaminelor și indolalchilaminelor în structurile simpatice ; sub acțiunea unor stimuli nervoși, prostaglandinele sînt sintetizate și, după ce și-au desfășurat activitatea, sînt rapid inactivate, fie la nivel cerebral, fie la nivel medular sau la nivel periferic. Li s-a atribuit rol de mediator chimic la nivelul sinapselor din SNC, pe baza prezenței lor în structurile nervoase centrale și ale efectelor multiple și prompte asupra acestora, ca și a specificului sintezei, transportului și metabolizării lor. Nu toți autorii le atribuie rolul de mediator chimic, întrucît efectele lor asupra SNC diferă între ele în funcție de : specia animală și de gradul de dezvoltare al SNC, de compusul prostaglandinic și de diverse relații farmacologice (35). **a.** Experimentările au indicat că prostaglandinele din seria E au efecte sedative, pe cînd cele din seria F au efecte foarte slabe sedative. **b.** Prostaglandinele PGE_1 prezintă efecte anticonvulsivante nete, dar cu o durată destul de scurtă la șoarece, după administrarea de leptazol 100 mg/Kgcorp. **c.** Observîndu-se efectul asupra căilor motorii s-a concluzionat că PGE_1 produce la pisică o midriază moderată, care poate dura 3—4 ore, dar reflexele pupilare rămîn normale.

$PGF_{2\alpha}$, (25—450 μg/Kgcorp) injectată i.v. produce, la puii de găină, o extensie extremă a membrelor inferioare și o extensie moderată a capului care durează pînă la 30 minute ; în doze mai mici (5—25 μg/Kg corp) se provoacă o abducție a membrelor inferioare ; $PGE_{2\alpha}$ acționează direct asupra neuronilor motori din măduva spinării. Efectele PGF_1 asupra căilor motorii centrale, cerebrale și spinale sînt mult mai complexe, mai diferențiate, decît acelea ale PGF_2.

d. Prostaglandinele PGE_1 au efecte asupra unui grup de neuroni din trunchiul cerebral, efectul fiind inhibiția excitației de la centrii respiratori la cei cardioinhibitori și vasomotori.

e. De asemenea, prostaglandinele au efecte și asupra inervației vegetative. S-a demonstrat că PGE_1 și PGE_2 sînt eliberate de diferite țesuturi, ca răspuns la stimularea adrenergică și că, în același timp, ele inhibă răspunsurile a numeroase țesuturi la stimularea nervoasă. PGE_1 și PGF_2 își extind efectul inhibitor și la β-hidroxilaza dopaminei.

f. Unele prostaglandine din seria E (PGE_1 și PGE_2) mai au efecte asupra : — terminațiilor nervoase senzitive ; — funcției miocardului ; —vasomotricității (cele din seria A au o acțiune mai mare ; PGA_2 este de 20 ori mai activă ca PGE_1). Prostaglandinele din seria A și E au un puternic efect vasodilatator la nivelul arteriolelor periferice ca și la

Scanned with OKEN Scanner

foarte multe arii vasculare vicserale. Astfel, au acțiune vasodilatatoare coronariană : $PGE_1 > PGE_2 > PGA_1 > PGF_1 > PGF_2$ și acționează asupra circulației pulmonare și renale, inducînd contracția sau relaxarea mușchiului neted vascular, prin producerea depolarizării sau repolarizării sale concomitent cu producerea unui flux sau eflux de Ca^{2+}.

B. Prostaglandinele acționează asupra sistemului *bronhopulmonar* cu eficacitate asupra mușchilor netezi traheobronșici și asupra relației ventilație alveolară-perfuzie perialveolară. *Vitaminele F*, în special *acidul arahidonic*, stimulează formarea prostaglandinelor de celulele medularei renale, mai ales de PGA_2, PGE_2 și $PGF_{2\alpha}$, unde se află în cantitatea cea mai mare din organism.

PGA_1, în perfuzie i.v. (0,1—2,1 μg/Kgcorp/min.) la bolnavi cu hipertensiune arterială esențială și/sau cu stări edematoase, a evidențiat un efect *antihipertensiv* și *diuretic* ; la animale s-a obținut același efect și cu PGE_2. De asemenea, acidul arahidonic produce o creștere dependentă de doză a eliberării reninei, prin intermediul endoperoxizilor prostaglandinici ; există o interrelație renină-prostaglandine, ceea ce ne face să considerăm că există o interrelație între *vitaminele F — renină*. PGE_2 stimulează eliberarea *reninei* din celulele corticale renale, pe cînd PGF_2 au un rol inhibitor asupra eliberării de renină, ca și încărcarea tubulară cu Na^+, care declanșează formarea de $PGF_{2\alpha}$. De asemenea, există o strînsă relație între sistemul prostaglandinic și sistemul kininic la nivel renal ; prostaglandinele sensibilizează și amplifică răspunsurile vasculare mediate de kinine.

C. Prostaglandinele influențează sistemul *gastrointestinal*, avînd efecte : 1 — asupra funcției motorii gastrointestinale, provocată, în general, de prostaglandinele din seriile E și F, care stimulează musculatura netedă digestivă în raport de specia animală.

La om, PGE_1 $PGF_{2\alpha}$, administrate per os (10—40 μg/Kgcorp), accelerează tranzitul intestinal la nivel ileal și colic. PGE_1 și PGE_2 regularizează undele peristaltice reflexe atunci cînd peristaltica gastrointestinală s-a dovedit a prezenta neregularități spontane. 2) — asupra funcției secretorii gastrice PGA_1 acționează inhibînd la om răspunsul secretor gastric acid la histamină și pentagastrină. PGE_2 este prezent în toate regiunile peretelui gastric uman, iar prostaglandinele sînt socotite astăzi ca factori de protecție a „barierei mucoase" gastrice (35), ca o parte din mecanismul de protecție împotriva ulcerului gastric.

D. Prostaglandinele și *hormonii glandulari*. Acțiunea prostaglandinelor în eliberarea fiziologică a unor hormoni hipofizari este din ce în ce mai discutabilă, considerîndu-se că ele au capacitatea de a potența neurohormonii hipotalamici și că pot acționa direct la nivelul hipofizei, prin intermediul unor receptori prostaglandinici. Experimentările au stabilit că prostaglandinele au o „acțiune oxitocinică" și că secreția de

Scanned with OKEN Scanner

PGF_2 în miometru, ca răspuns la acțiunea oxitocinei, variază în mod diferit în cursul ciclului estral. De asemenea, oxitocina stimulează, printr-o acțiune directă, producerea de prostaglandine în endometru. Oestrogenii pot influența secreția uterină de prostaglandine, printr-o intervenție directă în procesul biosintezei lor, ca și prin stimularea formării de receptori uterini pentru oxitocină, care, atunci cînd sînt activați de acest hormon, induc creșterea eliberării de $PGF_{2\alpha}$ din endometru.

Prostaglandinele au fost incriminate și în eliberarea hipofizară de prolactină și somatotropină. Astfel, PGF_2 are cea mai intensă activitate în eliberarea de prolactină ca și a hormonului de creștere (somatotropina). De asemenea, s-a dovedit că prostaglandinele stimulează steroidogeneza în corticala suprarenalei și că au acțiuni dominante asupra diverselor efecte ale catecolaminelor. Există o relație între ACTH, care stimulează biosinteza prostaglandinelor din acizii grași esențiali, și prostaglandinele biosintetizate, care modulează, la rîndul lor, efectul ACTH asupra steroidogenezei în acest organ (41).

Prostaglandinele din seriile E și F au implicații largi și în diferite reacții fiziologice, unele stînd la baza ovulației, fecundării, evoluției fătului și nașterii la om și mamifere.

E. Efectele asupra *elementelor sanguine și organelor hematopoetice.*

Degradarea acidului arahidonic pe calea ciclooxigenazei are loc în toate țesuturile, pe cînd pe calea lipoxigenazei se face numai în anumite tipuri celulare ca : plachete, neutrofile, limfocite, mastocite, macrofage, celule testiculare (Hamber P., Samuelson B., Lindgren I. A., Marcelo C., Stenton, Parker).

Prostaglandinele E au ca efect biologic principal activarea sistemului adenilat-ciclazei, care induce creșterea AMPc și scăderea AMP-ciclic, prin biocataliza fosfodiesterazei.

Prostaglandinele de tip F stimulează guanilat ciclaza.

Metaboliții acidului arahidonic influențează răspunsul imun la diferite niveluri, astfel :

a. — stimulează diferențierea limfocitară;

b. — inhibă mitogeneza limfocitelor, producția de limfokine și citotoxicitatea, ca și producția de anticorpi ;

c. — produșii care se formează pe calea lipooxigenazei (leukotrienele) au un important efect chemotactic și sînt efectori ai degranulării mastocitare și ai neutrofilului ;

d. — leukotrienele C și D sînt mediatori importanți ai bronhoconstrucției imunologice ;

e. — prostaglandinele acționează ca mediatori ai inflamației, inducînd vasodilatația și creșterea permeabilității vasculare.

Metabolizarea acidului arahidonic pe calea ciclooxigenazei este mai activă la nivelul macrofagilor și limfocitelor, astfel că producția

Scanned with OKEN Scanner

bazală crește o dată cu stimularea prin complexe antigen-antico-endotoxine, zymozan, Cornynebacterium parvum, colchicină.

Totodată, au efecte inhibitorii pe limfocite (inhibă producția de limfokine, mitogeneza, citotoxicitatea mediată celular, ca și producția de anticorpi), dar și stimulatorii, numai la diferențierea limfocitelor.

Metaboliții *acidului arahidonic* acționează și pe *neutrofil*, determinînd eliberarea factorilor chemotactici, din care activi sînt : 5 HETE, 12 HETE, HTD_4 și LTC_4.

Prostaglandinele au fost găsite crescute în exsudatele inflamatorii, iar atunci cînd au fost administrate (PGE, prostacicline și derivați HETE) au produs semnele clasice ale inflamației (febră, eritem, durere, vasodilatație, creșterea permeabilității vasculare), demonstrîndu-se, astfel, rolul lor în inflamație. Au fost găsite în lichidul sinovial din artrite și în tegumentul psoriazic.

Prostaglandinele la nivelul plămînului sînt principalii factori bronhoconstrictori (PGF_2-alfa și TxA_2, dar, mai ales, PGC, PGD și leukotrienele).

Acțiunea lor se realizează prin intermediul nucleotidelor celulare.

Metaboliții rezultați din degradarea acidului arahidonic, pe calea lipoxigenazei, au rol bronhoconstrictor, care se evidențiază în astm prin intoleranță la analgetice, aspirină, antiinflamatorii nesteroidiene.

Prostaglandinele, care rezultă din metabolizarea acidului arahidonic pe calea cicloxigenazei, au rol evident în baza tardivă a crizei bronhospastice curente.

S-a arătat că alte prostaglandine au un rol important în fenomenele de hipersensibilizare imediată *(alergia reaginică)* unde, alături de beta—antagoniști și teofilină, inhibă eliberarea histaminei din bazofilele periferice în conflictul antigen—anticorp.

De asemenea, s-a demonstrat că unele prostaglandine (PGE_2 și PGF_2-alfa) inhibă eliberarea anafilatoxinelor in vitro, pe plămînul uman sensibilizat (Walker).

Prostaglandinele au efecte și asupra metabolismelor *lipidic, glucidic, proteic* și *nucleoproteic.*

F. *În reglarea lipolizei*

Folosind țesuturi adipoase (om și animale) s-a evidențiat că PGE_1 și PGF_2 sînt componente ale unui mecanism de reglare a lipolizei, prin care-și desfășoară efectele metabolice unii hormoni glandulari. Acțiunea prostaglandinelor este în funcție de doză și de cooperarea lor cu unii hormoni, de felul noradrenalinei și al altor hormoni adipokinetici, care stimulează adenilciclaza (AC) din membrana adipocitului, provocînd astfel creșterea concentrației intracelulare de adenozinmonofosfat ciclic (AMPc), ce activează lipaza trigliceridică și fosfolipaza A din celulele adipoase (fig. 33).

Scanned with OKEN Scanner

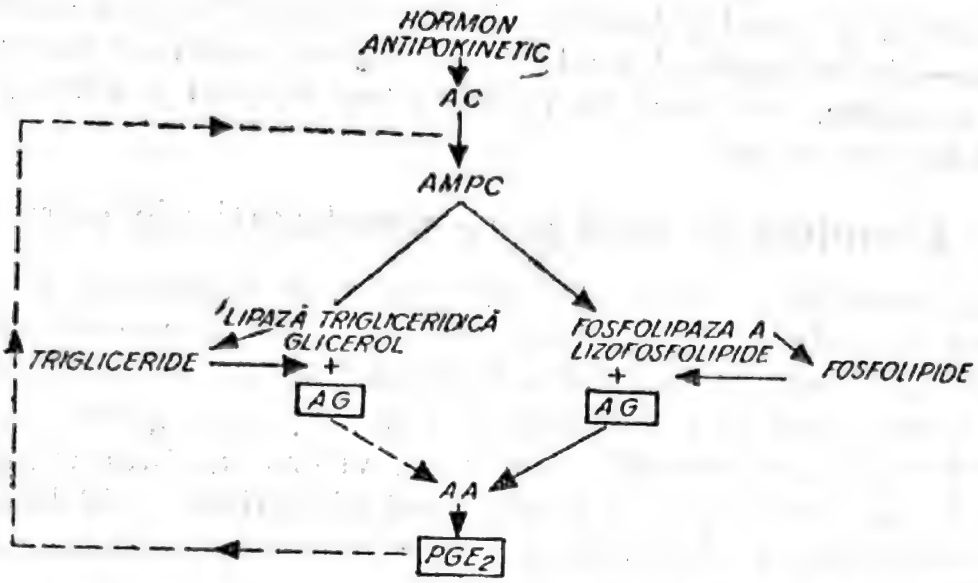


Fig. 33 — Schema mecanismului de reglare a lipolizei în adipocite de prostaglandine și hormonii adipokinetici.

Lipaza activată hidrolizează trigliceridele, eliberînd acizii grași ai acestora și deci și acidul arahidonic ; acizii grași devin sursa de energie metabolică. Fosfolipaza A activată scindează fosfolipidele membranei celulare, eliberînd acidul arahidonic (AA), care este precursorul procesului de biosinteză al prostaglandinelor. Cele două enzime acționează printr-o inhibiție competitivă cu diferiți hormoni lipolitici, printr-un mecanism feed-back negativ, la nivelul sistemului adenilciclază-adenozinmonofosfat ciclic-fosfatodiesterază (AC—AMPc — EDE) din membrana adipocitului.

2. *Efectul hiperglicemiant*

Observațiile asupra metabolismului glucidic sub acțiunea prostaglandinelor (PGE_1) injectate i.v. la animale au conchis că au efect hiperglicemiant.

Investigațiile clinice, cu PGE_1 și PGA_1, la om au concluzionat că nu influențează insulinemia și implicit glicemia.

3. Influențează *metabolimul proteic* și *nucleoproteic*. Metabolismul proteic și nucleoproteic este influențat de prostaglandine; astfel, s-a observat, experimental, că PGE_1 și PGE_2 scurtează timpul de vindecare al plăgilor și stimulează încorporarea de leucină timidină, uridină și prolină în țesuturile cicatriciale. Prostaglandinele PGE_1, $PGF_{2\alpha}$ activează biosinteza de colagen și influențează biosinteza de proteine, ARN și ADN, din tegumentele animalelor.

În ultimul timp, foarte multe lucrări implică prostaglandinele în terapeutică, mai ales în mecanismul patogenic al unor afecțiuni ca : aritmiile cardiace, ateroscleroza, astmul bronșic, trombozele intravasculare, disfuncțiile hepatobiliare, ulcerul gastric, glaucomul, sindromul

Scanned with OKEN Scanner

nefrotic, scleroză renală, hipertensiune arterială, bolile autoimune, diabetul, procesele inflamatorii, unele maladii neuropsihice, obezitate, unele discrazii sanguine, tulburări în reproducție, tumori maligne, mai ales ale glandelor endocrine.

4.8. Cerințele de acizi grași nesaturați ai organismului

Experimentarea efectuată pe propriul organism de un voluntar, care timp de 6 luni s-a hrănit cu o dietă aproape total carențată în vitamina F (dietă care a produs la șobolan boala carenței de grăsimi), a dus la constatarea că : organismul a pierdut din greutate, prezenta coeficientul respirator complet modificat, viteza metabolismului bazal a crescut, iar în sînge a scăzut foarte mult nivelul de acid linolic și arahidonic. Totodată, s-a observat că apare o susceptibilitate crescută la infecții (38).

La copii, cărora li s-au administrat diete cu cantități foarte mici de grăsimi, au apărut eczeme, căderea părului și o scădere a acizilor grași nesaturați în sînge (tabelul 41).

Tabelul 41

Conținutul în acizi grași din sîngele copiilor, cu procentaj al acizilor grași (38)

Copii	Nr.	Acizi grași totali mg/100 ml	Dienoic	Trienoic	Tetra-enoic	Hexa-enoic
			% din acizii grași totali			
Bine nutriți	60	301	30,3	1,5	10,2	4,2
Subnutriți	34	278	12,0	2,4	7,0	1,8

Fig. 34 — Aspectul mîinii : A. cu eczemă în regim carențat în vitamina F ; B. după tratament cu vitamina F.

Această stare a fost ameliorată și vindecată prin administrarea în hrană de grăsimi care conțineau acești acizi. S-a observat că există un paralelism între cantitatea de acizi grași nesaturați din ser și fenomenele eczematoase la copii (fig. 34).

Indicele de iod este scăzut în ser, în perioada de carență a vitaminei F, și se ameliorează, crescînd în perioada administrării.

Scanned with OKEN Scanner

La *omul adult* se consideră *normal* acidul arahidonic 3,2%, acidul linolic 5,7%, indicele de iod sanguin = 12. Simptomele dispar cam în 2—4 săptămîni (44).

Necesarul de vitamină F la om este calculat pe bază energetică. Aportul caloric al acizilor grași nesaturați într-o rație trebuie să reprezinte 1—2% din valoarea calorică globală a acesteia.

În desfășurarea normală a proceselor metabolice este necesară o cantitate minimă de acizi grași esențiali, care variază cu starea fiziologică a organismului respectiv și cu mediul ambiant. Cantitatea minimă de acid linolic utilă prevenirii sau înlăturării tulburărilor unei carențe (circa 50—60 mg linoleat/zi) s-a dovedit a fi proporțională cu vîrsta organismului (51).

Nou-născutul, din cauză că nu are rezerve de vitamină F, are nevoie de o cantitate de 2—3 ori mai mare decît adultul. De asemenea, s-a observat că necesitatea organismului este în funcție și de sex, indiferent de vîrstă, nevoia sexului masculin fiind de 3—5 ori mai ridicată decît a celui feminin.

În perioada de gestație, necesarul de acizi grași esențiali este cu mult mai mare decît a masculului de aceeași vîrstă. De ex., necesarul femelei de șobolan este de 20 mg/zi acid linolic, dar în perioada de gestație sau lactație este de 100 mg/zi, pentru a se preveni tulburările carențiale.

Există un raport direct proporțional între prezența în hrană a colesterolului și a acizilor grași saturați, mai ales a celor cu lanț lung (C_{14}—C_{18}), și necesitatea organismului în acizi grași polienoici, indiferent de starea fiziologică.

Acidul linolic esterifică colesterolul seric în proporție de peste 60%, micșorînd, totodată, nivelul colesterolului liber și total din ser. Experimentările pe animale au demonstrat că administrarea de ulei de porumb (ce conține acizi grași nesaturați esențiali) a împiedicat apariția simptomelor de ateroscleroză.

Prezența colesterolului în dietă, ca și a acizilor grași, duce la mărirea tulburărilor provocate de carența vitaminelor F. Lipsa din hrana șobolanilor a acizilor grași esențiali mărește considerabil susceptibilitatea acestora la acțiunea razelor X și, ca să se obțină efectul protector maxim, trebuie să se administreze zilnic cantități de 4—5 ori mai mari de acid linolic.

Laptele matern conține acid linolic circa 4—5% din valoarea lui calorică; simptomele de carență ale vitaminelor F la sugari apar atunci cînd laptele matern furnizează mai puțin din energia ingerată, datorată carenței în acid linolic.

Pentru un adult cu muncă sedentară se recomandă ca acidul linolic să nu depășească 7—8 g/zi (100 mg/Kgcorp), ceea ce reprezintă

Scanned with OKEN Scanner

nevoia minimă zilnică de 1,5 g din substanța uscată (500—600 g) a dietei zilnice (45).

Se consideră că administrarea de 1% acid linolic din necesarul caloric este suficientă și pentru o dezvoltare fiziologică.

Nevoia minimă a sugarului este de 0,5—1 mg/Kgcorp, cantitate pe care o găsește în laptele matern.

4.8.1. **Hipovitaminoza F.** Lipsa de hrană a acizilor grași esențiali, tulburările de resorbție ale grăsimilor, precum și stările patologice hepatice (ciroză etc.) ale gravidelor determină ca majoritatea nou-născuților să aibă supraviețuire limitată, iar cei care supraviețuiesc prezintă o marcantă încetinire a creșterii.

La sugari ca și la copii, carența vitaminică se manifestă prin : eczeme (fig. 35), căderea părului, oprire în creștere ; în asemenea stări, acizii grași esențiali dispar aproape complet din piele, iar cantitatea lor din ser este mult micșorată (46—51).

a b

Fig. 35 — a. Eczema feței la copil cu regim sărac în acizi grași esențiali ; b. după tratament cu vitamina F.

Carența în acizi grași esențiali este o cauză principală a anemiei macrocitare, respectiv a anemiei hemolitice la sugar.

La adult, carența poate determina : modificarea tabloului sanguin, tulburări trofice ale pielii, perturbări ale funcțiilor hepatice, ovariene și testiculare, leziuni renale, perturbări ale metabolismului lipidic etc.

În hipovitaminoză s-au constatat alterări ale mitocondriei (care conține 20—30% acizi grași esențiali) cu scăderea eficienței fosforilării oxidative hepatice, cu modificări ale enzimelor oxidoreducătoare : glutamicodehidrogenază, succindehidrogenază și citocromoxidază, care conține 20% acizi grași esențiali, în special acid arahidonic care, îndepărtat, atrage inactivarea enzimei.

Scanned with OKEN Scanner

4.9. Interacţiunea vitaminei F cu vitamine, enzime şi hormoni

Cercetări numeroase au demonstrat că acizii graşi esenţiali funcţionează în organism prin cooperare cu vitamina D, făcînd calciul şi fosforul mai disponibili pentru asimilarea în ţesuturi. De asemenea, acizii graşi esenţiali stimulează transformarea carotenelor în vitamina A.

K. Meghal şi C. Nath (46) au arătat că prezenţa acidului linolic, în hrana şobolanului, într-o proporţie de 5%, antrenează o mărire permanentă a excreţiei urinare de tiamină. Autorii explică acest fenomen printr-o supraproducţie în intestin a vitaminei B_1, datorată prezenţei acidului linolic.

T. Terroine (47) susţine că acizii graşi esenţiali ar avea un efect indirect, modificînd activitatea florei intestinale, care produce vitamine (de ex., cazul vitaminelor din grupul B) şi o acţiune directă prin intervenţia vitaminelor F asupra proceselor metabolice ale vitaminelor, care nu sînt elaborate de flora intestinală.

De asemenea, se consideră că intervenţia vitaminei B_1, în sinteza grăsimilor la animalele hrănite cu un regim lipsit de grăsime, este consecinţa metabolismului piruvic (48). Faptul că vitamina B_1 măreşte cantitatea de acizi graşi saturaţi, din organismul acestor animale, dovedeşte că ea ameliorează transformarea glucidelor în grăsimi. De aici s-a observat că vitamina B_1 intervine în raportul dintre acizii graşi saturaţi şi acizii graşi nesaturaţi.

De asemenea, acizii graşi esenţiali intervin în excreţia urinară a vitaminei B_1 (tabelul 42).

Tabelul 42

Intervenţia acizilor graşi esenţiali în excreţia urinară de vitamina B_1 (38, 53)

	mg/şobolan 24/ore, după zile			
	15	30	45	60
Regim fără acid linolic	1,22	1,35	1,84	3,33
Regim cu 5% acid linolic	2,21	2,38	2,52	3,12

Metabolismul vitaminelor F mai este influenţat şi de transformarea glucidelor în grăsimi, cel puţin sub aspectul rolului pe care îl poate avea raportul acizi graşi nesaturaţi/acizi graşi saturaţi, în trigliceridele şi fosfatidele în care se găsesc. De asemenea, în procesul de sinteză al grăsimilor din proteine intervine activ vitamina B_6. Drept urmare a meta-

Scanned with OKEN Scanner

bolismului protidic este posibilă determinarea unui anumit raport între acizii grași saturați și acizii grași nesaturați esențiali. În mod normal, raportul P/S (acizi polinesaturați, acizi saturați) este de 75—25%. În ateroscleroză, concentrația acizilor grași nesaturați, în raport cu cei saturați, scade considerabil. Administrarea vitaminei F a scos în evidență efectul aterogen al ei, precum și interacțiunea cu vitaminele B_6, B_1, B_{12}, C, K, A, D etc.

Cercetările (48—52) au arătat că asociația piridoxină-acid pantotenic prezintă acțiune profilactică în apariția eczemelor din carența de acizi grași nesaturați esențiali. De asemenea, α și β-tocoferolul (49) exercită o acțiune favorabilă asupra metabolismului acidului linolic și, în general, asupra acizilor grași esențiali.

Vitamina E are rol profilactic în apariția eczemelor în carența vitaminei F. Cantitatea de acid linolic din alimentația zilnică, pentru un metabolism normal fiziologic, trebuie să fie în raport de 1g la 0,5 mg α-tocoferol; uleiurile de porumb, soia, orz încolțit, de cea mai bună calitate, de multe ori satisfac acest necesar alimentar.

Vitaminele F, datorită capacității lor de a se oxida ușor, mai intervin și în unele sisteme enzimatice: lipoxidaza, catalaza, peroxidaza. Se poate imagina că mai multe tipuri de interrelații pot fi explicate prin faptul că o carență acționează asupra activității unui sistem enzimatic, modificînd nivelul unei alte vitamine cu rol de coenzimă în acest sistem (49).

Dacă se consideră ce se petrece în funcționarea însăși a sistemului, relevăm mai întîi posibilitatea de a înlocui o vitamină (sau coenzima ei) prin alta. De ex., în metabolismul glucozei pe calea Embden-Mayerkof, acidul dehidroascorbic sau riboflavina pot înlocui NAD (47, 50).

De asemenea, interacționează cu hormonii: adrenalina, noradrenalina, serotina, cortizonul, hidrocortizonul, dietilstilbistrolul, estrona, mai ales cu aceea cu metabolizare microzomală.

Acizii grași esențiali sînt necesari pentru funcționarea normală a glandelor endocrine, în special pentru suprarenală și tiroidă.

Vitamina F, în organism, mai are un rol important în respirația organelor vitale, înlesnind oxigenului transportul mai ușor prin torentul sanguin la celule și țesuturi, avînd totodată marea capacitate de agent oxidativ (54).

Acizii grași esențiali se combină cu proteinele și colesterolul pentru formarea de membrane vii care susțin corpul celular.

4.10. Unități de activitate

Pentru activitatea vitaminei F este utilizat ca standard acidul *linolic*, a cărui activitate este socotită la 100 U/g. Acidul linolic are o activitate de 9 U/g, iar acidul arahidonic 130 U/g.

Scanned with OKEN Scanner

4.11. Produse farmaceutice și cosmetice

Industria de medicamente a pus la dispoziția medicinei "VITAMINA F" — sub formă de capsule ce conțin 270 mg și flacoane cu soluție a 10 ml concentrat de esteri etilici ai acizilor grași nesaturați esențiali, extras din uleiul de floarea-soarelui, denumit și "vitamina cosmetici".

Sinonime : Vitamina F. 99 (Franța), Linocyclin (R.F.G.), Linosan (R. P. P.).

Păstrare : loc uscat, răcoros, ferit de lumină.

4.11.1. **Indicații terapeutice la om.** Datorită acțiunii trofice, "VITAMINA F" este indicată în : eczeme, seboree, psoriasis, acnee vulgară, furunculoză, ulcerații atone ale pielii, arsuri. Se administrează cîte 2 capsule de 3 ori/zi sau 50—150 pic. de 3 ori/zi, la adulți, timp de 1—3 luni. La copii 1—20 pic./zi, durata tratamentului fiind în funcție de vîrstă (1—4 luni sau chiar ani).

Avînd acțiune lipotropă este folosită în hepatita cronică sau ciroze cu infiltrație sau degenerescență grasă a ficatului, în dozele menționate, în funcție de gravitatea bolii, ca medicament adjuvant.

Vitaminele F au acțiune antitrombotică, prin acidul linolenic pe care-l conțin.

Tratamentele cu vitamina F ajută la prevenirea diareei, a scăderii în greutate, a tulburărilor prostatice, a arteritelor, în susceptibilitatea mărită la alergii, vene varicoase, calculi biliari etc.

Vitamina F intervine în exercitarea în condiții optime a efectului lipotrop al colinei, ca și în desfășurarea fiziologică a metabolismului fosfolipidelor, a grăsimilor neutre și a steridelor. Avînd acțiune aterogenă, este indicată în ateroscleroză ; intervine în procesele endocrino-ovulatorii, cu acțiune pozitivă în hiperfoliculinemie.

În *ateroscleroză* ca și în *hipercolesterolemie* se indică preparatul ROWASCLERON (56), a cărui capsulă conține esteri ai acizilor grași nesaturați din untura de pește : vitamina A 150 μg, piridoxină clorhidrică 750 μg, anetol 18,75 mg, camfor 9 g, acid citric 5,625 mg, linoleat de metil ($C_{28}H_{50}O_2$ = 418,7) 5,625 mg, menthol 36 mg.

Doza : 2 capsule de 3 ori/zi.

În cazul afecțiunilor pielii se fac unguente care au în compoziție ulei de in nefiert (conțin 72—83 acizi grași esențiali) și cetaceu, lanolină, butir de cacao etc. De asemenea, se mai folosește ulei de germeni de grîu (44—52%), ulei de floarea-soarelui (52—61% acizi esențiali) sau ulei de soia (56—63%).

Cosmetica modernă utilizează capacitatea trofică a vitaminei F în scopul de a suprima ridurile, de a regenera prospețimea pielii și de a

Scanned with OKEN Scanner

preveni acneea, eczemele, furunculoza etc. (54). De exemplu : crema vitaminică „Doina", „Femina" conţin vitamina F.

"ESABON BARRIER CREAM" (Southon-Horton) (56) conţine acizi graşi nesaturaţi din grupul linolic-linolenic şi hexaclorofin 0,25%, fiind indicată pentru protecţia pielii faţă de agresivitatea acizilor, alcoolilor, sărurilor, formolului şi fenolilor.

Vitamina F, prin acidul arahidonic pe care-l conţine, are, ca şi acidul homo-gama-linolenic, rol de unităţi esenţiale morfofuncţionale ale membranelor celulare (55).

4.11.2. **Vitaminoterapie veterinară.** Vitamina F se foloseşte în unguente, per os şi injectabil în stările de carenţă care determină epidermului sec, scuamos, plăci hemoragice, depilaţii, cu eczeme uscate, în special ale extremităţilor, la cîine şi porc (necroze), degenerarea testiculilor, leziuni renale etc. (9).

Are un mare rol în creştere, în funcţiile tegumentelor, în metabolismul lipidelor necesare sistemului nervos, influenţează indirect mecanismul endocrin şi ovulaţia la animale (53).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BURR G.O., BURR M.M., J. Biol. Chem., 82, 345 (1959). 2. ARCUS C.L., SMEDLEY Y., MC. LEAN, Biochem. J., 37, 1 (1963). 3. CUTCHEON J.W., GRAWFORD M.F., WELCH H.L., Oil Soap (Egipt), 18, 9 (1961). 4. HOLMAN E., Steroid biochemistry. Acad. Press (1966). 5. WAGNER A., Vitamins and coenzymes ; Interscience Publisch. (1964). 6. HUME E.M., HUNN I.C.A., SMEDLEY I., MC. LEAN, SMITH H.H., Biochem. J. ,34, 384 (1967). 7. REISLER R., MURATY N.L., Biochem. Biophys. Res. Commun, 5, 265 (1961). 8. ROCHLIN A.I., WASYLIW N., GOLDHERY M.W., J. Org. Chem. 26, 2 688 (1971). 9. ENESCU L., Farmacologie şi receptură veterinară. Ed. Did. Ped. (Buc.), (1967). 10. WIDNER C., HOLMAN R.T., Arch. Biochem. 25, 1 (1968). 11. REISER R., J. Nutr., 44, 159 (1971). 12. FULC A.Y., MEAD J.F., J. Biol. Chem. 235, 3 379 (1960). 13. STEINBERG G., SLATON W.H., HOWTON D., MEAD J.F., J. Biol. Chem. 220, 257 (1956). 14. MEAD J.F., HOWTON D.R., J. Biol. Chem. 219, 705 (1956). 15. HOWTON D.R., MEAD J.F., J. Biol. Chem. 235, 3 385 (1968). 16. MEAD J.F., Am. J. Clin. Nutr. 8, 55 (1970). 17. STOFFEL W., Biochem. Biophys. Res. Commun, 6, 270 (1969). 18. LEHNINGER L.A., Biochem., Worth Publ. INC (1972). 19. CHIOSA L., NEUMAN M., Vitamine şi antivitamine. Ed. Med. (Buc.) (1955). 20. HEIDUSCHA A., LUFT K., Arch. Pharm. 207, 33 (1969). 21. ROSETTI—COLTOIU MATILDA, OŢELEANU D., Biocatalizatori (1980), Ed. Med. (Buc.). 22. GOUNELLE H., MARNAY C., Les siques et tests des Carences Vitaminiques. Ed. de Visscher. Bruxelles, Paris (1965). 23. MEAD J.F., STEINBERG G., HOWTON D.R., J. Biol. Chem. 205, 683 (1983). 24. STEINBERG G., SLATON W.H., JR., HOWTON IAR., MEAD J.F., J. Biol. Chem. 220, 257 (1968). 25. AAES E., ROGENSEN J., FUNCH J.P., ENGEL P.P., DAM H., Brit. J. Nutr. 10, 292 (1966). 26. RAPOPORT S.M., Medizinsche Biochemie. Ed. VEB, Verlag Volkund gesundheit, Berlin (1973). 27. RAMALINGASMAMI V., SINELAIR H.M., Brit. J. Nutr. 5, 10 (1971). 28. ENESCU L., BAZGAN L., Biocatalizatori, Lit. IMF Iaşi (1978). 29. AMMON H., DIRSCHERL W., Fermente, Hormone, Vitamine B III, Ed. Georg. Thieme Verlag, Stuttgardt (1974). 30. RACKER E., Biochem. Biophys. Res. Comm. 10, 435 (1963). 31. HOWTEN D.R., HOSHIMOTO S., Am. J. Clin. Nutr. 8, 50

Scanned with OKEN Scanner

(1976). **32.** GREENBERG D.M., Metabolic patway, vol. III, Acad. Press, 4, (1970). **33.** LEHNINGER E., Biochem. Ed. II, Worth Publ. New York (1975). **34.** RIECKEHOFF I.G., HOLMAN R.T., BUR G.O., Arch. Biochem. 20, 331 (1967). **35.** ENESCU L., Biochimie medicală, vol. I, Lit. IMF Iași (1979). **36.** MARCHETTI M., TESTONI S., J. Nutr. 84, 249 (1969). **37.** HOVE E.L., HARRIS P.L., J. Nutr. 31, 699 (1986). **38.** ENESCU L., Biochimie. Vitamine liposolubile, Lit. IMF Iași (1975). **39.** BERGSTROM S., DANIELSSON H., SAMUELSSON B., Biochem. Biophys., Acta. (1964), 90, 207. **40.** VAN DORP D.A., BEERTHUIUS, R., NUGTEREN D.H., VONKEMAN H., Biochim. Biophys. Acta. (1964). 90, 204. **41.** PAUȘESCU E., POPESCU V. MIHAELA, Prostaglandinele în biologie, Ed. St. și Enciel. (1981) Buc. **42.** PIKE J,E., Invest. Dermatol. (1986) 67, 650. **43.** TERRAGNO N.A.,TERRAGNO D.A., MEGIFF J.C., Circulation Res. (1977), 40. 590. **44.** HANSEN A.E., HAGGARD M.E., BOELSCHE A.N., ADAM J.D., WIESE. H.F., J. Nutr. 66, 565 (1968). **45.** GONTEA I., Alimentația rațională a omului. Ed. Did. Ped. (Buc.) (1970). **46.** MEGHAL S.K., NATH M.C., Brit. J. Nutrit. 19, 189 (1965). **47.** THERROINE T., Les interrelations Vitaminiques. Ed. du Centre Nationale de la Recherche Scientifique (1966). **48.** DUPRE A., CURTIS J.D., BECK J.C., Brit. Med. 3, 560 (1987). **49.** TERROINE T., Ann. Nutr. Alim. 18, C, 7 (1969). **50.** GORENSKY M.C., Thèse 3e cycle. Fac. Sc. Paris (1968). **51.** ORZEN J.M., Biochemistry, C.V. Mosby Co (1978). **52.** GREENBERG D.M., CALBERT C.E., SAVAGE E.E., DENEL H.Y., J. Nutr. 41, 473 (1970). **53.** VINTAN A., SCHOBES O., ENESCU L., Farmacologia veterinară. Ed. Did. Ped. (Buc.), (1967). **54.** SOUCI S.W., Die Zusammensetzung des Lebensmittel. Wissenchaftliche Verlag Stuttgart (1981). **55.** BEDELEANU D., MANTA I., Biochimie medicală. Ed. Dacia (1985). **56.** MARTINDALE, The Extra Pharmacopeia. Ed-VI, The. Pharmaceutical Press. (1979).

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL 5

VITAMINELE K. – VITAMINELE ANTIHEMORAGICE

5.1. Istoric

În perioada 1929—1930, H. Dam, cercetînd metabolismul colesterolului la puiul de găină, a relatat primele observații asupra existenței vitaminei K [1]. Mai tîrziu, în 1931, G. Mc. Farlane [2, 3] a observat că apar hemoragii la păsările hrănite cu regimuri sărace în grăsimi.

În 1934, H. Dam, susține existența unei vitamine care este solubilă în grăsimi, a cărei lipsă produce hemoragii, propunînd numele de vitamină K (Koagulation vitamin) [4].

G. Mc. Farlane (5, 6) a remarcat că hemoragiile la puii de găină, care primeau un regim alimentar sărac în grăsimi, puteau fi tratate cu carne de pește ; dacă aceasta era supusă unei extracții cu solvenți organici, nu mai avea eficacitate în boala hemoragică.

F. Schönheyder [7] și G. Mc. Farlane au stabilit relația dintre vitamina K și coagularea sîngelui, relatînd că sîngele provenind de la păsările cu hemoragii aveau un timp de coagulare prelungit.

În 1936, F. Schonheyder (8) a sugerat pentru prima dată ideea că timpul de coagulare prelungit s-ar datora hiperprotrombinemiei. Autorii [9] au observat că timpul de coagulare prelungit se datora unui nivel scăzut de protrombină plasmatică, la puii cu deficit de vitamină K, și că această vitamină nu ar avea o acțiune asemănătoare trombinei.

În 1937, T. Quick [10] relatează că a observat la puii de găină cu dietă deficitară de vitamina K o scădere progresivă a protrombinei, pînă la un an, prag cînd apare tendința hemoragică ; sînt readuși la starea normală prin administrarea de hrană bogată în vitamina K. Tot în același an, s-a arătat că mamiferele la care lipsea bila intestinală aveau hipoprotrombinemie, tendință hemoragică și lipsa vitaminei K.

Cercetările efectuate pe șobolani și cîini cu fistulă biliară experimentală au confirmat că absența bilei din intestin provoacă hemoragii consecutive deficienței de vitamină K, asociată cu hipoprotrombinemie [11, 12]. Aceleași simptome s-au observat și la om [13], în cazuri cu icter mecanic și fistulă biliară.

Scanned with OKEN Scanner

În 1935, Y. Almquist și M. Stockstad au arătat că lucerna este o puternică sursă de vitamină K [14], iar izolarea vitaminei a fost realizată, în 1939, de P. Karrer și M. Dam [15], sub forma unui ulei de culoare galbenă, iar E. Binkley a obținut-o cristalizată (p. t. = —20°C).

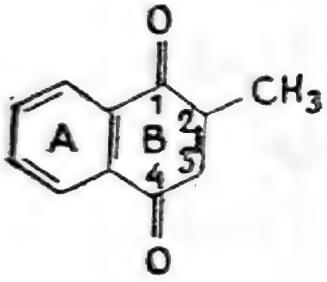
În 1939, s-a arătat că în lucernă se pot izola mai multe substanțe cu activitate similară cu a vitaminei K.

D. Mc. Corkuodle [16] și Mc. Kee [17] au izolat două substanțe, vitamina K_1 și K_2, din făina de lucernă și carnea de pește putredă, iar Y. Almquist și A. Klose [18] au găsit ftiocolul (2-metil-3-hidroxi-1,4-naftochinonă) din bacilul tuberculozei, care avea o acțiune coagulantă.

5.2. Structura vitaminelor K

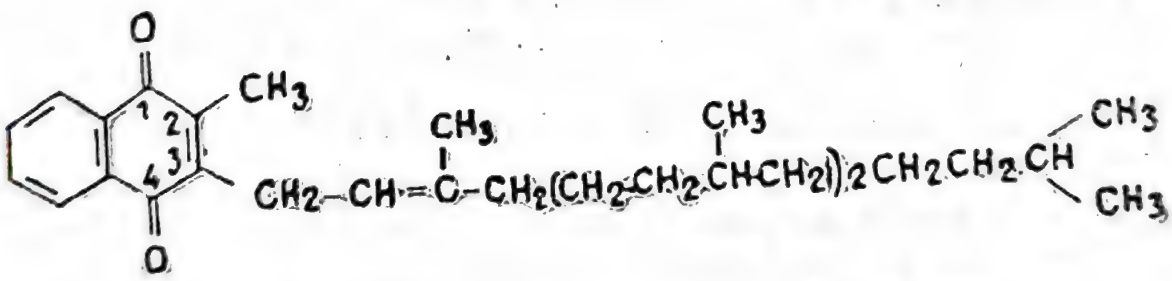
Printre autorii care s-au ocupat cu studiul structurii vitaminelor K, amintim pe E. Doisy [17], Y. Almquist, A. Klose (18) și F. Fieser. (19).

Cercetările [20 — 22] au arătat că structura vitaminelor K au la baza lor nucleul 2-metil-1, 4-naftachinonă. La acest nucleu, în poziția 3 se atașează o catenă laterală compusă din 10—50 carboni.



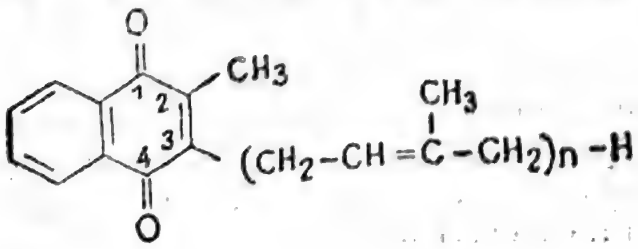
Cercetările [19, 23—26] au arătat de la început că sînt mai multe vitamine K, astfel :

Vitamina K_1 (filochinona) notată $K_{1\,(20)}$, întrucît are lanțul lateral cu 20 C (2-metil -3-fitil-1,4-naftochinonă), a mai fost denumită filochinonă ($C_{31}H_{46}O_2$) :



Are o serie de derivați în care intră filochinonele dimetilate (DKn) sau dehidrogenate.

Grupa vitaminelor K_2 au formula generală :



n = 4 — 10. Din această grupă fac parte următorii derivați : menachinonele (MKn), menachinonele parțial hidrogenate (MKn — H_2) și menachinonele dimetilate (DMKn).

Scanned with OKEN Scanner

H. Doisy a izolat vitamina K_2 din făina de pește putrezit ; ea este sintetizată de unele bacterii, fiind 2-metil-3-farnesil-farnesil-1, 4-naftochinonă sau 2-metil-3-hexaprenil-1, 4-naftochinonă, prescurtat MK_6 ; n=6.

a. — Vitamina $K_{2(35)} - (C_{46} - H_{64} - O_2)$; (2-metil-3-al-trans-farnesilgeranil-geranil-1,4-naftochinonă) ; n=7.

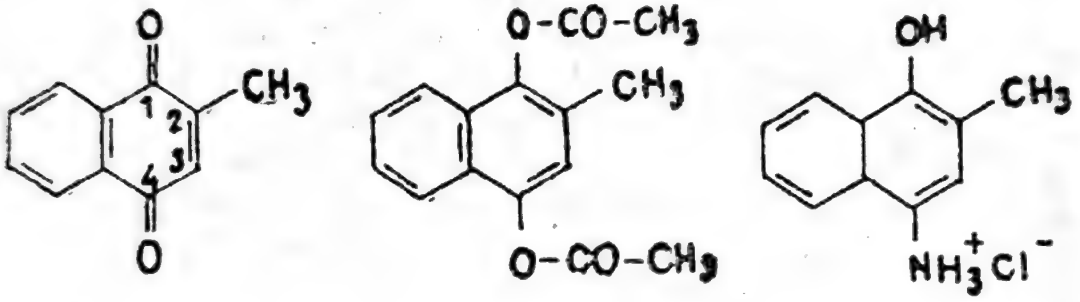
b. Vitamina $K_{8(30)}$; $(C_{41}H_{56}O_2)$; (2-metil-3-al-trans-difarnesil-1,4-naftochinonă) ; n=5.

c. Vitamina $K_{2(45)}$; (2-metil-3-solanesil-1,4-naftochinonă) ; n=8.

d. Vitamina $K_{2(20)}$; (2-metil-3-geranil. geranil-1,4-naftochinonă); n=3.

e. Vitamina K_3 sau menadiona $(C_{11}H_8O_2)$ (2-metil-1,4-naftochinonă) ; are ca derivat naftochinonic Vitamina K_4.

Vitamina K_4 sau Menadiol (2-metil-1,4-diacetil-naftohidrochinonă),



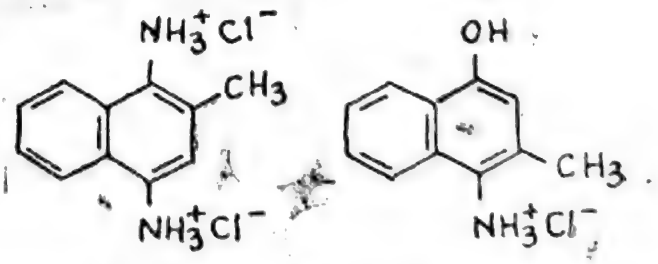
VITAMINA K_3 VITAMINA K_4 VITAMINA K5

Vitamina K_5 ; (1-hidroxi-2-metil-4, aminonaftolhidrocloric). Tot derivați ai naftalinei mai sînt : Vitamina K_6 : (2-metil-1,4-diaminonaftalindihidrocloric).

Vitamina K_7 : (4-amino-3-metil-1-naftol-hidrocloric).

Aceste vitamine au fost izolate, cu ajutorul eterului de petrol, din făina de lucernă sau fîn, din făina de carne de pește putredă.

Pentru izolarea lor s-a utilizat metoda cromatografică și distilarea moleculară, iar substanțele absorbante au fost fie cărbune animal, fie permutit.



VITAMINA K_6 VITAMINA K7

P. Karrer a folosit, pentru eliminarea clorofilei din preparatele brute, $ZnCO_3$. Din 30 kg de pulbere de lucernă s-a obținut 0,5 g de substanță cristalină, galbenă, prin distilare sub presiune la 115—145°C. Unele bacterii (bacillus brevis, mycobacterium tuberculosis etc.) sintetizează derivați din care catena laterală constă din 7—8 resturi prenil

Scanned with OKEN Scanner

(MK_7—MK_9). De asemenea, micobacterium phlei sintetizează, pornind de la acidul shikimic, un derivat al vitaminei MK_9, în care un radical prenil este hidrogenat, denumit II-dihidromenachinonă-9 sau MK_9 (II-H_2) de comisia IUPAC-IUB.

S-au mai izolat și menachinone dimetilate (DMK_5, DMK_6, DMK_7 din haemophilus parainfluenzae și DMK_7, DMK_8, DMK_9 din E. coli și Streptococcus foecalis) (20, 21).

5.3. Vitamina K_1 (filochinonă)

A fost izolată din cloroplaștii frunzelor verzi de lucernă [27], [28], urzici și roșii, precum și din ficatul animalelor.

Izolarea din plante cu solvenți a fost inițiată de M. Dam, iar Y. Almquist și A. Klose [22, 23] au extras-o cu hexan. Extractul obținut a fost tratat cu acid phosphowolframic și alcool etilic diluat, apoi supus unei temperaturi sub 0°C, pentru a se înlătura clorofila și impuritățile, după care s-a cromatografiat de mai multe ori.

Alte procedee au folosit la cromatografie diverse materiale active ; astfel B. Binkley [28] a utilizat $CaCO_3$, $CaSO_4$ pe cînd R. Karrer [29] a folosit $MgSO_4$, $ZnCO_3$.

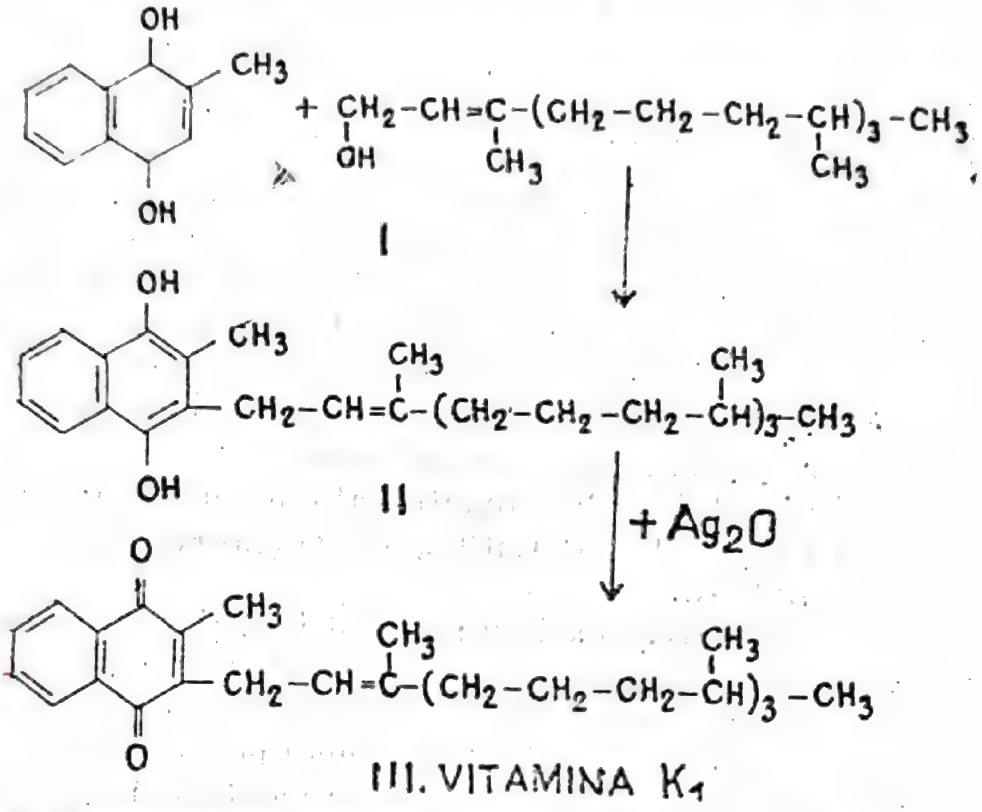
Vitamina K_1 și derivații săi au mai fost izolați și prin următoarea metodă : extracția din frunze s-a efectuat cu eter de petrol la fierbere, la care se daugă $ZnCO_3$, pentru îndepărtarea clorofilei [30]. Extractul eterat a fost răcit, filtrat și distilat la vacuum la 150°C ; distilatul amestecat cu acetonă, după filtrare a fost concentrat. Reziduul dizolvat în eter de petrol s-a trecut printr-o coloană cromatografică, umplută cu $ZnCO_3$; prin coloană, se trece eter, eter de petrol cu 10% benzen. Benzile de absorbție au fost separate mecanic, iar eluatele obținute au fost cromatografiate pe $ZnCO_3$; separările cromatografiate se repetă de 7—8 ori, obținîndu-se un ulei galben, care este vitamina K_1 (20).

5.3.1. **Sinteza vitaminei K_1.** În 1934, Y. Almquist și A. Klose, Mc. Corquodale și Fieser au sintetizat vitamina K_1 din fitol (I) sau bromură de fitil [31] și menadiona sau menadiol. F. Fieser a efectuat condensarea în dioxan cu acid oxalic ; drept catalizator au fost utilizați: $AlCl_3$, $KHSO_4$, $ZnCl_2$; de asemenea, în loc de fitil s-a putut folosi esterul său precum și izofitolul racemic, iar ca rezultat a fost derivatul dihidroxivitamina K_1 (II) care, împreună cu Ag_2O, a fost transformat în vitamina K_1 (III) [32].

În ultimii ani, J. Isler a sintetizat vitamina K din izofitol racemic și menadiol, obținînd vitamina K_1 racemică. La nivelul mitocondriilor hepatice, filochinona este transformată în menadionă, datorită reacțiilor enzimatice, iar în continuare, menadiona este convertită în vitamina K_2 [33].

Scanned with OKEN Scanner

La plante, în cloroplaști, filochinona participă într-un proces fitochimic la directa transformare a energiei radiante în energie chimică. În procesul de fotosinteză, care decurge în mai multe faze, filochinona se găsește la așa-numita fosforilare ciclică. Prin acest proces se obține ATP din ADP și fosfor sub influența energiei luminoase :



III. VITAMINA K_1

5.3.2. **Proprietățile fizico-chimice.** Vitamina K_1 este un derivat de naftohinonă, ce se află sub formă de lichid uleios, cu punct de fierbere 115—145°C, care cristalizează la —20°C. Este insolubil în apă, solubil în uleiuri, grăsimi, benzen, eter, cloroform. Lumina și substanțele alcaline o distrug foarte repede; de asemenea, este sensibilă la acțiunea oxidantă a aerului atmosferic. Are un spectru de absorbție cu intensitate maximă, cuprinsă între 243—328 nm.

Vitaminele K au potențial redox de 0,05 V.

În cadrul etapei de fosforilare ciclică a fotosintezei, vitaminele K sînt catalizatori foarte importanți desfășurării procesului redox, iar după unii autori (32) acestea sînt corelație cu tocoferolii și cu ubichinonele.

5.4. Grupa vitaminei K (farnochinone, menachinone)

W. McKee și col. (31) au izolat, în 1939, din făina de carne de pește, un compus galben, optic inactiv, notat cu indicativul K_2, pe care mai tîrziu l-au purificat și cristalizat.

Din grupul vitaminelor K_2 fac parte următoarele vitamine: $K_{2(10)}$, $K_{2(20)}$, $K_{2(30)}$, $K_{2(35)}$, $K_{2(40)}$ și $K_{2(50)}$, ale căror indicative arată numărul atomilor de carbon din lanțul lateral.

Scanned with OKEN Scanner

Denumirea de menachinone sau vitamina K_2 a fost dată, conform indicațiilor Comisiei IUPAC-IUB, pentru nomenclatura compușilor cu structură 2-metil-3-multiprenil-1,4-naftochinonă, prescurtat MKn, unde n indică numărul unităților prenil (3-metil-but-en-1-il), denumit anterior izopren.

Din grupul vitaminelor K_2, cele mai importante s-au dovedit a fi următoarele: $K_{2(40)}$, $K_{2(35)}$, $K_{2(30)}$, $K_{2(20)}$ și se găsesc mai frecvent în bacterii.

5.4.1. **Vitamina $K_{2(35)}$** nu se găsește în plante, ci în materiile animale putrezite, fiind obținute prin metabolismul bacterian (E. Coli, Bacterium bifidus, Proteus vulgaris, Streptococcus fecalis) în intestinul gros al omului și animalelor.

Această vitamină a fost izolată din carnea de pește putrezit (sardele), prin următorul procedeu : din carnea de pește fărămițată s-au îndepărtat lipidele cu eter izopropilic ; aceasta a fost umectată apoi cu apă și incubată la 35—40°C timp de 6 zile, pentru putrefacție. Cu ajutorul eterului de petrol s-au făcut extracte repetate, care au fost trecute printr-o coloană cromatografică cu permutit. Prin eluări repetate cu eter de petrol, ce conținea 15% benzen, și prin concentrarea acestor eluate s-au obținut cristale de vitamină $K_{2(35)}$, de culoare galben-deschis.

În condiții aproape asemănătoare a fost izolată și vitamina $K_{2(30)}$, prin extracții cu eter de petrol, după îndepărtarea lipidelor cu alcool metilic. Vitamina $K_{2(30)}$ pură, cristalizată, se topește la 49— 50°C, pe cînd cristalele de vitamină $K_{2(35)}$ se topesc la 52— 53,5°C.

Cercetările (30) au arătat că dihidroacetatele obținute, atît din vitamina K naturală, cît și din vitamina $K_{2(35)}$ sintetică, au același punct de topire (57°C) și nu prezintă nici o deosebire. Acest fapt a demonstrat că vitamina K_2 din făina de pește putrezită, cu punctul de topire 54° C și cu formula $C_{46}H_{64}O_2$, are lanțul lateral format din farnesil-geranil, cu 35 atomi de carbon, și este identică cu vitamina obținută prin sinteză.

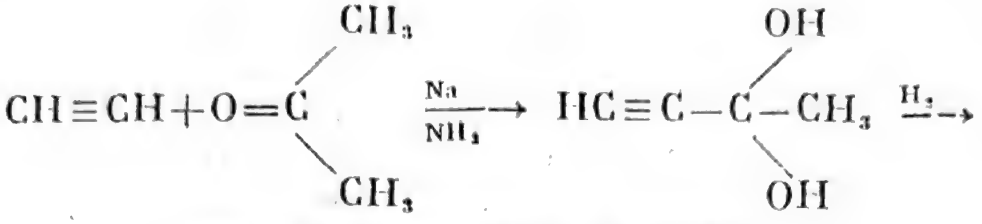
P. Tischler și E. Samson (35) au izolat vitamina $K_{2(35)}$ din Bacilus brevis.

5.4.1.1. *Sinteza vitaminei $K_{2(35)}$* a fost efectuată printr-o condensare a acetonei cu acetilura de sodiu, în soluție de amoniac. Produsul nou format (I) a fost redus la carbinol alilic (II), care este tratat cu PBr_3, pentru a se obține 3-metil-2-butenil-bromură (III) (20). Această bromură a fost condensată cu esterul aceto-acetic, formînd un produs intermediar, (IV) al cărui lanț carbonic a fost mărit cu ajutorul unei unități de izopren, obținîndu-se geranil-acetona (V), care a fost separată prin distilare.

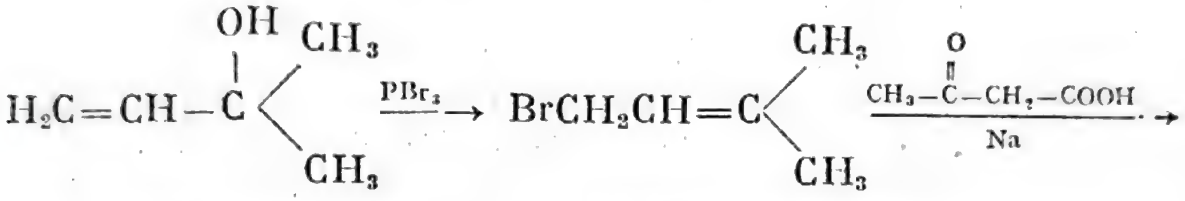
Prin reacții asemănătoare s-au introdus încă 3 unități izoprenoide, obținîndu-se izomerii cis și trans, care sînt separați prin cristalizări ca: geranil-geranil-acetona, farnesil-geranil-acetona și farnesil-farnesil-acetona (VI).

Scanned with OKEN Scanner

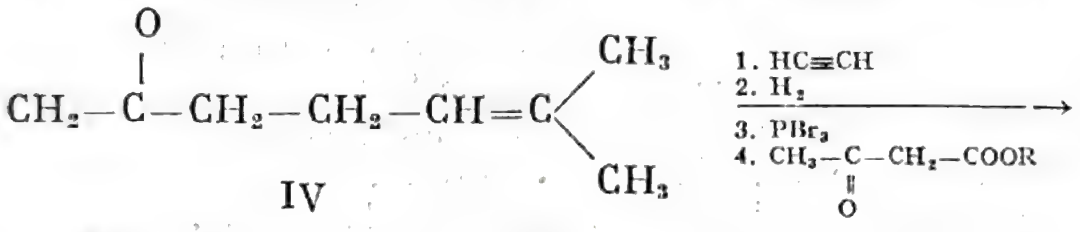
Se condensează farnesil-farnesil-acetona cu acetilură de sodiu în amoniac lichid, iar produsul intermediar ce se obține se hidrogenează, parțial, la legătura acetilenică, ducînd la obținerea de carbinol alilic (VII), care a fost condensat cu 2,4-naftohidrochinonă, obținîndu-se vitamina $K_{2(35)}$.



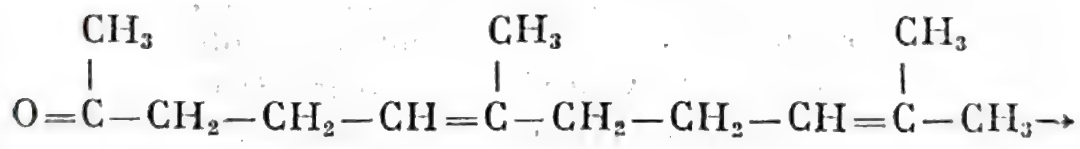
acetonă + acetilura de sodiu I



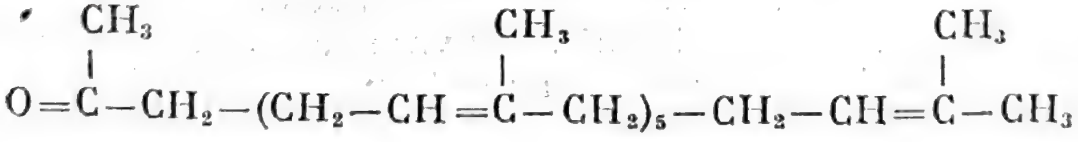
II (carbinol alilic) III (3-metil 2-butenil-bromură)



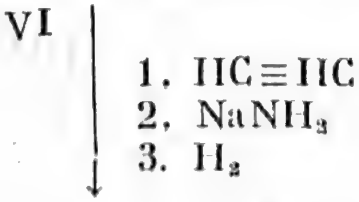
IV

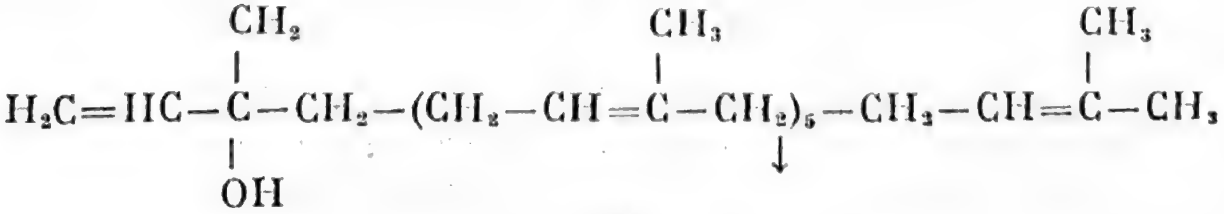


V (geranil-acetona)



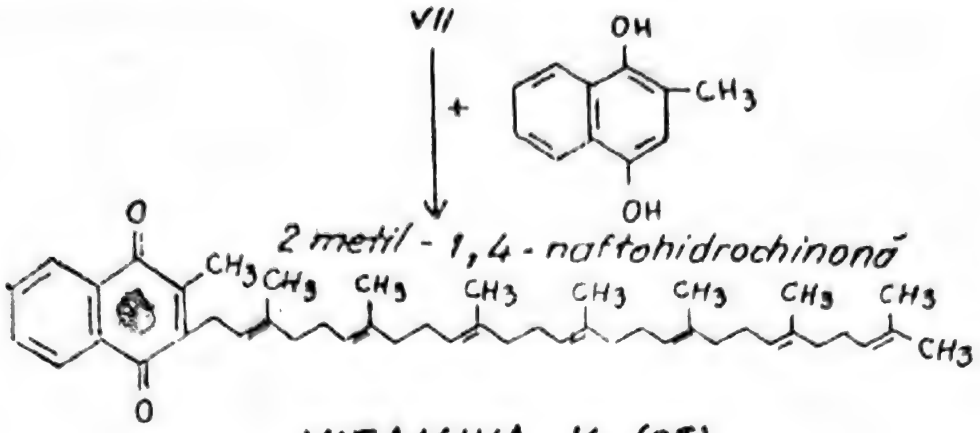
VI farnezil-farnezil-acetona





VII

Scanned with OKEN Scanner



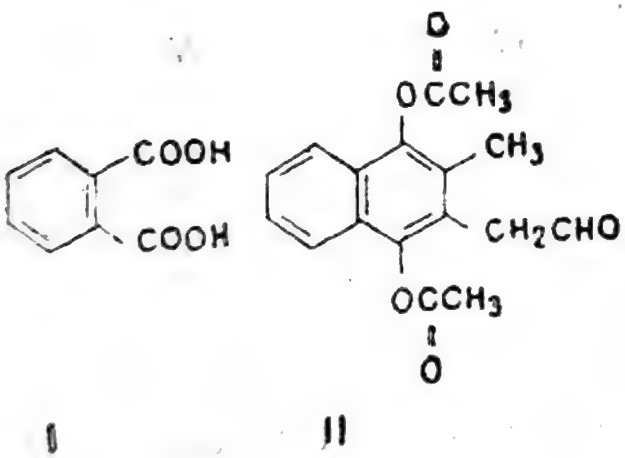
VITAMINA K_2 (35)

5.4.2. **Vitamina $K_{2(30)}$** a fost sintetizată prin condensarea 2-metil-1,4-naftochinonei cu farnesil-nerolidol, în prezența FBr_3 eterate.

Cristalele obținute din mediul de eter de petrol sau din alcool metilic au culoarea galben-pai, cu punct de topire 53,5°—54,5°C.

O. Isler (36) a arătat, în 1958, că această vitamină este compusul 2-metil-3-difarnesil-1,4-naftochinona.

Cristalele sînt insolubile în apă, dar se solubilizează în acetonă, eter, benzen, grăsimi și alcool absolut. În mediul alcalin și expusă la lumină se descompune. Nu este optic activă.



I II

Prin oxidare cu $KMnO_4$ și $K_2Cr_2O_7$ s-a obținut acidul ftalic (I), iar prin acetilare s-a obținut dehidroacetatul care, prin ozonizare, a trecut în 1,4-diacetoxi-2-metil-3-naftil-acetaldehidă (II).

5.4.3. **Vitamina $K_{2(20)}$** a fost izolată din rinichi, mușchii scheletici, inimă și ficat.

Folosindu-se tritiul (39) în experimentările pe puii de porumbel și de șobolan s-a putut stabili că vitamina $K_{2(30)}$ trece in vivo în $K_{2(20)}$, care se distribuie în diferite organe. Această conversie are loc la nivelul ficatului.

5.4.4. **Vitamina $K_{2(45)}$** a fost izolată din produse naturale. Prin sinteză s-a obținut, prin condensare, 2-metil-1,4-naftochinonă, cu un poliizoprenol denumit solanesol, în prezența FBr_3 eterate (37, 38).

5.5. Vitamina K_3 (menadiona)

Farmacopeea română, ed. IX (48), prevede că se prezintă ca o pulbere cristalină de culoare galbenă, aproape fără miros. La lumină se

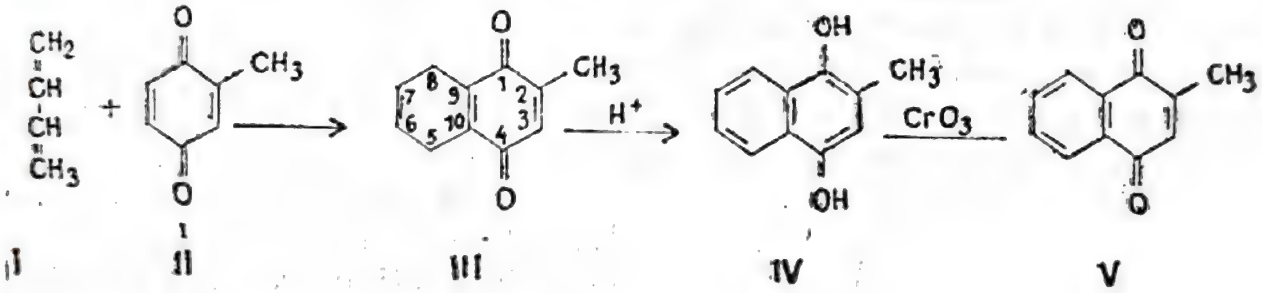
Scanned with OKEN Scanner

descompune și se colorează, este iritantă pentru piele și căile respiratorii. Soluția alcoolică este vezicantă. Substanța este, practic, insolubilă în apă, solubilă în 60 părți alcool și 10 părți benzen ; de asemenea, este greu solubilă în cloroform și tetraclorură de carbon, solubilă în uleiuri vegetale. Are punctul de topire 105—107°C. Soluțiile uleioase se sterilizează la 150°C, timp de o oră, pentru scop medical.

În 1925, s-a sintetizat vitamina K_3, denumită și menadionă sau 2-metil-1,4-naftochinonă (40), prin acțiunea oxidantă a acidului cromic asupra 2-metil-naftalenului, care se găsește în gudronul de cărbune (41).

Ulterior, s-a sintetizat și prin alte metode (42—47), care folosesc diferiți derivați ai 2-metil-naftalenei, cu o serie de agenți oxidanți ($FeCl_3$, H_2O_2, HNO_3, Ag_2O, tetraacetat de plumb etc.)

De ex., condensarea butadinei cu 2-metil-1,4-benzochinonă (II) a dus la obținerea unei tetrahidrochinone (III), care izomerizată dă 5,8-dihidro-2-metil-1,4-naftohidrochinonă (IV); aceasta, oxidată, se transformă în menadionă (V) :



Pentru *identificarea vitaminei* se folosesc următoarele reacții : a. se solvă 1 mg substanță în 1 ml alcool și se adaugă 1 ml HCl ; prin încălzire pe baie de apă, la fierbere apare o colorație roșie-rubinie ; b. la 1 ml soluție alcoolică, care conține 1 mg substanță, se adaugă o soluție de NaOH 10%, după care apare o colorație verde.

Pentru ca menadiona să fie folosită ca medicament trebuie să nu fie impurificată cu arsen, să nu piardă prin uscare mai mult de 0,3%, iar prin calcinare să nu lase un reziduu mai mare de 0,1 %, care să dea reacții de precipitare cu metalele grele (48).

Menadiona formează complecși în soluții apoase cu donori de electroni, cum ar fi cafeina, nicotinamida, acid salicilic, teobromina ; ei pot reduce descompunerea fitochimică a vitaminei K_3.

5.6. Vitaminele K_4, K_5, K_6, K_7

Vitamina K_4 a fost obținută prin reducerea 2-metil-1,4-naftochinonei cu ajutorul zincului și a acidului acetic, în mediu de anhidridă acetică (fig. 36). Această vitamină este ușor oxidată în aer și nu are utilizare

terapeutică ; este însă un produs important de plecare pentru sinteza filochinonei.

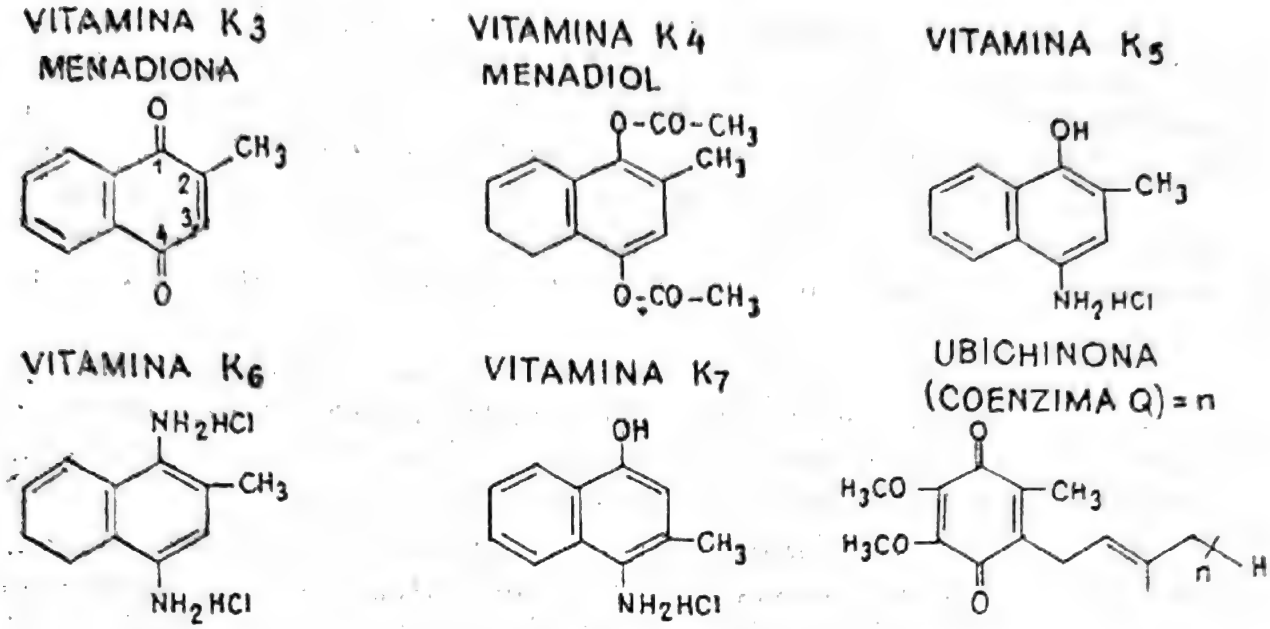


Fig. 33 — Vitaminele K_3, K_4, K_5, K_6, K_7 și ubichinona.

Vitamina K_5 (4-amino-2-metil-1-naftol-dihidrocloric) (49) și vitamina K_6 (1,4-diamo-2-metilnaftalen-dihidrocloric) (50) (fig. 36) au fost sintetizate din 2-metil-naftalin (51, 52) ; sînt hidrosolubile.

Vitamina K_7 (4-amino-3-metil-1-naftol-hidrocloric) (53, 54) este o substanță hidrosolubilă și izomer al vitaminei K_5 ; ea a fost sintetizată printr-un procedeu similar cu cel al vitaminei K_5 (fig. 36).

5.7. Metode de dozare

5.7.1. Metode fizice

5.7.1.1. *Metodele spectrografice.* Numeroși autori (29, 55, 56) au constatat că dozarea vitaminei K, datorită fotolabilității ei, se poate face în ultraviolet. Pentru identificarea omologilor vitaminelor K_1 și K_2, Noll H. (43, 44) și alți autori (57, 58) au utilizat spectroscopia în infraroșu

5.7.1.2. *Metode polarografice.* La cercetarea cantitativă a vitaminelor K, pe cale polarografică, Herschberg C. (cit. 59) a constatat că, în soluție hidroalcoolică de $CaCl_2$, acestea dau o undă catodică la potențial pe jumătate.

Pentru vitamina K_2 , Murray A. (60) a propus o tehnică polarografică, iar Isler O. (61, 62) a indicat o metodă pentru vitamina K_5.

5.7.2. **Metode chimice.** Metoda utilizată curent pentru determinarea vitaminei K, din produsele farmaceutice, este metoda lui Novelli.

Scanned with OKEN Scanner

Vitamina K_2 solvită în etanol sau metanol dă reacţii de culoare cu clorhidratul de cisteină şi cu 2,4-dinitrofenilhidrazină.

5.7.3. **Metodele biologice** sînt cele mai specifice şi cele mai utilizate. Se folosesc atît *metode curative*, cît şi *preventive*. Metoda *curativă* se bazează pe determinarea timpului de protrombină înainte şi după administrarea unei doze eficiente de vitamină K la animalul carenţat.

Metoda *preventivă* constă în determinarea cantităţii minime de vitamină K, necesară pentru prevenirea simptomelor de avitaminoză. Timpul necesar metodei curative este de 2—3 zile, pe cînd al metodei preventive este de 1 —15 zile.

Deoarece vitamina K ia parte la sinteza moleculei de protrombină în ficat, precum şi a factorului (VII), pentru dozarea vitaminei K se determină *timpul de protrombină* după Quick şi testul Koller (timpul de protrombină şi proba de încărcare cu vitamina K) (55).

Pentru efectuarea *timpului de protrombină* se utilizează următoarea tehnică : 0,1 ml plasmă oxalatată se tratează cu 0,1 soluţie de trombokinază, se încălzeşte la 37,5°C ; se adaugă apoi 0,1 ml soluţie $CaCl_2$ 0,02 M şi se măsoară timpul de coagulare al amestecului. Media timpului de protrombină, la *omul normal*, este de 14 secunde (100%).

Dacă timpul Quick scade sub 70%, atunci există o incapacitate hepatică în folosirea vitaminei K. În acest caz, se administrează o doză de 20 mg vitamină K. După 24 ore se face din nou timpul Quick. Dacă arată din nou o concentraţie scăzută a protrombinei, atunci diagnosticul se îndreaptă către leziuni hepato-celulare. În cazul cînd timpul Quick tinde către normal (100%), diagnosticul se îndreaptă spre un icter mecanic.

Tratamentul se va face, în cazul leziunilor hepato-celulare, cu vitamină K, sau, în al doilea caz, se va trata icterul mecanic.

Timpul Quick este în funcţie nu numai de conţinutul în protrombină ci şi de alţi factori ca proaccelerina şi proconvertina ; aceştia pot, singuri, izolaţi sau împreună, să prelungească timpul Quick.

Un studiu complet al coagulării impune deci dozarea acestor factori.

Nou-născutul prezintă o hipoprotrombinemie şi o hipoconvertinemie fără modificarea accelerinei ; dimpotrivă, la parturientă se constată o hiperpreconvertinemie fără hiperprotrombinemie.

La bolnavii hepatici deficitul se referă la cei trei factori menţionaţi.

Vitamina K corectează deficienţele în protrombină şi proconvertină.

Cercetările cu ajutorul izotopilor radioactivi (63, 64) au arătat că vitaminele K de origine animală sînt înmagazinate în ficat, unde sînt

Scanned with OKEN Scanner

metabolizate în menadionă, din care o parte este transformată în vitamină $K_{2(20)}$, iar o parte este transportată în alte țesuturi (65).

Cercetările (65) efectuate in vitro, cu omogenate de ficat de șobolan sau găină, au arătat că vitamina $K_{2(20)}$ provine din menadionă. Sistemul enzimatic localizat în mitocondrii catalizează condensarea menadionei cu geranil-geranil-pirofosfat, formîndu-se vitamina $K_{2(20)}$. Această activitate a sistemului enzimatic nu este specifică numai pentru conversia în vitamină $K_{2(20)}$, întrucît s-a relatat că se poate produce în cantități mai mici și vitamina $K_{2(45)}$, în ficatul de șobolan, și vitamina $K_{2(20)}$, în ficatul de găină.

Conversia catenei laterale în vitamină $K_{2(20)}$ are loc după o oră de la administrarea filochinonei sau a vitaminei $K_{2(50)}$; vitamina $K_{2(20)}$ a putut fi pusă în evidență aproape în toate organele animalelor de experiență.

C. Martius (53) consideră că în celula hepatică există mai multe enzime localizate diferit, care anihilează încorporarea catenelor laterale specific izoprenoide. Sub această formă, catena laterală C_{20} este încorporată exclusiv în biosinteza in vivo a vitaminei $K_{2(20)}$, pe cînd in vitro toate enzimele din celulele distruse au acțiune pentru biosinteza diferitelor vitamine K_2.

Transformarea vitaminei K_3 în vitamină $K_{2(20)}$ a fost demonstrată și prin culturile de celule, stabilindu-se că la animalul normal are loc numai biosinteza vitaminei $K_{2(20)}$.

5.8. Biogeneza vitaminelor K

Cercetările (20, 21, 33, 66) efectuate, fie pe plante, fie pe animale, au arătat că vitaminele K au o structură naftochinonică, elementul de bază fiind format din două cicluri hexagonale, notate AB (28, 47). Nu toate vitaminele K_{1-7} sînt folosite în aceeași măsură ; cea mai utilizată este vitamina K_1 și apoi vitamina K_2.

Sinteza vitaminelor K se face pe cale naturală și pe cale artificială.

Pe cale naturală, în plantele verzi ia naștere vitamina K_1, iar în unele microorganisme vitamina K_2, tot atît de activă ca și vitamina K_1. Vitamina K_2 a fost izolată din materialele de putrefacție din plante și animale, în special din carnea de pește putredă. Ulterior, s-au izolat și sintetizat și alți analogi ai vitaminelor K.

Vitaminele K_1, K_2 iau naștere din metil-naftochinonă și acid mevalonic. Din acest acid se formează catena laterală corespunzătoare ; de ex., pentru vitamina K_1 din fitol ($C_{20}H_{31}$), de unde și numele de filochinonă, iar pentru vitamina K_2 din difarnesil ($C_{30}H_{49}$),

Catena laterală a vitaminelor K, de natură izoprenoidă, se formează în plante sau în celulele microbiene, în timpul sintezei carotenoizilor din

Scanned with OKEN Scanner

acetil-CoA, care trece în β-hidroxi-β-metil-glutaril CoA, acid mevalonic și izopentenil-pirofosfat.

Fitolul, care este necesar la formarea lanțului fitochinonelor, este elementul esențial pentru biosinteza tocoferolilor și a clorofilei (55).

Catena laterală a vitaminei K_2 și a ubichinonei (coenzima Q) se formează în mod asemănător.

S-a stabilit, pe medii artificiale, că vitaminele de tip K_2 sînt sintetizate de Bacillus mycoides, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Sarcina lutea, Serarratia marcescens, Staphylococus aureus, E. coli și de Mycobacterium tuberculosis (23), care produce fitocolul (derivat naftochinonic).

Cercetările menționează că în biosinteză trebuie să se formeze mai întîi nucleul benzoic, care este substituit la grupa hidroxilică, prin legarea unei molecule din izopentenil-pirofosfat ; se formează apoi metil-naftochinona, de care se leagă catena laterală la C_3, a cărei lungime este independentă de natura organismului : fitil (C_{20}) la plante, digeranil (C_{20}) la mamifere, iar la microbi (24) o grupare farnesil-digeranil (C_{35}) (Bacillus subtilis, Bacillus megatherium, Staphylococcus albus, toate gram-pozitive), o grupare tetrageranil (C_{14}) (sarcina luteea — gram-pozitiv), precum și gram-negativi (Escherichia coli, Proteus vulgaris) sau o grupă trifarnesil (C_{45}) la Corynebacterium diphtericum ; de asemenea, o grupă pentageranil $K_{2(50)}$ (Mycobacterium tuberculosis) (20).

O. Isler și col. (67) au arătat că unii microbi produc în cantități mici și vitamina $K_{2(30)}$, a cărei catenă laterală este formată dintr-un rest difarnesil ; de asemenea, s-a constatat că unii microbi conțin vitamina K_2 și o ubichinonă cu o catenă laterală de lungime egală ; de ex., C_{10} (E. col și Proteus vulgaris).

O. Lynén consideră că lanțul lateral fitil și farnesil, de natură terpenică, se poate forma, foarte probabil, prin condensări succesive a resturilor de izopentenil, activate de radicalul pirofosforic.

În organismul animal, biosinteza vitaminelor K se datorează florei microbiene din intestinul gros, dar și florei bacteriene din celelalte porțiuni ale tubului digestiv, care contribuie la biosinteză.

5.9. Vitaminele K în natură

Vitaminele K se găsesc în vegetale, părțile verzi, rădăcinile și fructele avînd un conținut mai mic de vitamine (tabelul 43).

În organismul animal, ca și al omului, flora microbiană din colon este cel mai important factor de sinteză a vitaminei K. Acest factor endogen este considerat de o importanță deosebită și, la unele animale și păsări, acoperă nevoile unui organism normal (69), (tabelul 44).

E. coli este principalul furnizor de vitamină K la sugari.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 43

Vitamina K în alimente (mg %/g) (68, 71)

Varză	cca. 3,6	Ficat de porc	0,4—0,9
Spanac (proaspăt)	3— 4,5	Ficat de găină	0,010
Urzică, lucernă	1,5—3	Mușchi de pui	0,20
Conopidă	cca. 3,2	Carne de vită	cca. 0,20
Fasole	0,3	Carne de oaie	cca. 0,20
Mazăre verde	0,3—0,4	Carne de porc	cca. 0,20
Tomate coapte	cca. 0,4	Ouă	0,002
Lapte de vacă	0,002	Ficat de vită	0,02
Lapte matern	0,02	Grăsime de pasăre	0,01

O parte din vitamina K biosintetizată la nivelul tubului digestiv este eliminată prin fecale. Coprofagia unor animale este socotită ca un izvor important de vitamină K ; de aceea, cînd se calculează necesarul de vitamină K al organismelor trebuie ca izvorul endogen de vitamină K să fie eliminat prin administrarea de antibiotice și sulfamide, care sterilizează tubul digestiv.

Necesarul de vitamină K, pentru animale, variază de la o specie la alta (tabelul 45).

Tabelul 44

Microorganismele care biosintetizează vitamina K (69, 71)

Microorganism	UI/g
Bacillus cereus	115
Bacillus mycoides	155
Bacillus subtilis	190
Bacillus aerogenes	20
Bacillus flexneri	30
Bacillus proteus	75
Escherichia coli	15
Mycobacterium tuberculosis	55
Sarcina luteea	100
Staphylococcus aureus	60

Tabelul 45

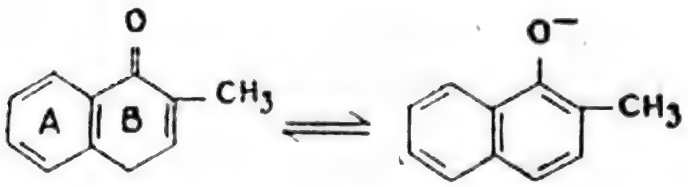
Necesarul zilnic de vitamină K la animale (72)

Specia animală	µg Kg corp
Găină	0,5 metil-naftochinonă
Șobolan	2,0 metil-naftochinonă
Cîine	0,9 filochinonă

5.10. Rolul fiziologic al vitaminelor K

Cercetările (73—75) efectuate pentru stabilirea corelației dintre structura chimică și acțiunea fiziologică au concluzionat că sînt obligatorii cîteva condiții pentru a avea activitate vitaminică :

Scanned with OKEN Scanner



a. — molecula să posede două cicluri benzenice, unul nesubstituit (A) și unul aromatic (B), care formează un nucleu naftalenic.

b. — prezența unei grupări metil la C_2 al ciclului naftalochinonic sau naftalenic este indispensabilă unei acțiuni biologice; c. — prezența unui lanț lateral poliizoprenic asigură rolul antitoxic al moleculei.

Deci, vitaminele K au la bază un nucleu 1,4-naftochinonic substituit, care este esențial pentru rolul fiziologic.

Vitaminele K, atît de origine exogenă cît și endogenă, sînt resorbite prin peretele intestinal. Originea endogenă este la nivelul mucoasei intestinale, unde flora microbiană eliberează vitamina. Datorită acestui fapt, la adulți semnele de carență sînt relativ rare, deoarece necesarul de vitamină K al organismului nu depinde în totalitate de sursele exogene.

S-a constatat că resorbția vitaminelor K este insuficientă dacă în intestin nu ajung cantități suficiente de bilă și, respectiv, acizi colici, în special dezoxicolic, fapt ce are loc în cazul icterelor mecanice și în leziunile hepatice parenchimatoase (ciroze etc.). Dacă în asemenea cazuri se aplică tratament cu vitamină K, are loc o creștere a concentrației protrombinei plasmatice. Carența vitaminică la păsări apare mai ușor decît la mamifere, întrucît au intestinul subțire mai scurt, și deci, au o suprafață de absorbție mai mică. Resorbția vitaminelor K este scăzută în cazurile de diaree sau vărsături, precum și după administrarea per os de ulei de parafină și cărbune animal, în scop terapeutic.

După absorbție, vitaminele K sînt preluate de limfă, fiind incluse în chilomicroni, iar de aici ajung în sînge, prin ductus thoracicus.

Derivații hidrosolubili de sinteză ai vitaminelor K pentru a fi absorbiți nu necesită prezența bilei, ajungînd la țesuturi și organe direct pe cale sanguină. În sînge, mușchi, piele, rinichi, pulmon etc., vitaminele K se află în cantități mai mici, iar în ficat și splină, în cantități mai mari.

P. Taylleur și col. au arătat că vitamina K_1C^{14}, administrată la șobolani, se fixează mai ales în ficat, contrar menadionei, care nu prezintă această proprietate.

La nivelul ficatului, vitaminele K sînt biotransformate; cel mai important proces constă în înlocuirea catenei din poziția 3, cu o catenă tetraprenil, formîndu-se compusul MK_4, concomitent avînd loc și alte transformări: structurile chinonice trec sub acțiunea NADH și NADPH în structuri hidrochinonice; au loc o serie de oxidări ale catenei laterale din poziția 3, cu formare de structuri acide sau lactonice; o parte din funcțiile hidroxilice pot fi conjugate cu acizi glucuronic sau sulfuric, care se elimină pe cale urinară.

Scanned with OKEN Scanner

Distribuția vitaminelor K în organism depinde de : a. țesutul reticuloendotelial (blocajul acestuia cu tuș de China are ca urmare scăderea conținutului de vitamine K), b. lungimea relativă a tubului digestiv, c. flora microbiană specific activă, care are un rol important în producerea vitaminei K (în special E. coli) și d. necesarul zilnic de vitamină K al animalelor, deci și al omului (70).

5.10.1. Acțiunea biochimică a vitaminelor K

5.10.1.1. *În coagularea sanguină.* Sîngerării sau hemoragiei i se opune, in vivo, hemostazia, care este un proces de apărare.

În hemostazia spontană a unei hemoragii, care este o reacție locală permanentă, prin care se opresc sîngerările vaselor mici și mijlocii, intervin trei factori : vasculari, plachetari și plasmatici, care sînt în strînsă interdependență. Factorii vasculari și plachetari (vasculoplachetari) au fost regrupați sub termenul de *hemostază primară*, iar cei plasmatici sub cel de *coagulare propriu-zisă.*

Hemostaza se realizează prin formarea unei pelicule de fibrină, care acoperă endoteliul vaselor, ce se fibrinolizează și se reface în mod continuu. Acest proces are loc în trei timpi (54) : I. *timpul parietal*, II. *timpul plasmatic* (coagularea propriu-zisă) și III. *timpul trombodinamic* (retracția cheagului și fibrinoliza).

I. *Timpul parietal* sau *hemostaza primară* durează 2—3 minute și are 2 faze : vasculară și de formare a trombusului.

În faza vasculară, cînd sînt lezate vasele mici, intervine rolul hemostatic al factorilor vasculari, prin reducerea calibrului, prin retracții sau prin vasoconstricție activă, care reduce debitul de sînge.

Defecțiunea acestei faze poate fi explorată prin : a. *testul timpului de sîngerare* (normal 2—4 min.) ; b. *testul garoului*, care numără normal dedesubtul garoului pînă la 20 peteșii într-un cerc cu diametrul de 3 cm.

Tot în timpul I mai are loc faza de constituire a trombusului alb, prin adeziunea și agregarea plachetară, care poate fi reversibilă și ireversibilă.

Agregarea reversibilă se produce prin aderarea unui număr de trombocite la cele deja fixate pe pereții endoteliali, rămînînd canale prin care continuă circulația sîngelui. La această agregare intervine ADP-ul trombocitar și ionii de calciu.

Agregarea ireversibilă este atunci cînd trombusul plachetar acoperă complet mucoasa vasculară, se formează trombusul alb, care astupă toate canalele ; este necesară prezența trombinei.

Această fază poate fi investigată prin : a. numărătoarea trombocitelor și studiul citologic ; b. timpul de sîngerare ; c. retracția cheagului ; d. trombelastograma ; e. studiul adezivității plachetare in vitro ; f. al agregării trombocitare in vitro etc.

Scanned with OKEN Scanner

II. *Timpul plasmatic* (coagularea propriu-zisă). În acest timp are loc hemostaza definitivă, permanentă ; coagularea sîngelui are loc sub controlul următorilor factori (76) : I. *fibrinogenul* ; II. *protrombina* ; III. *tromboplastina tisulară* ; IV. *calciul ionic*; V. *proaccelerina* VI. *accelerina* ; VII. *proconvertina* ; VIII. *globulina antihemofilică* A ; IX. *factorul Christmas* ; X. *factorul Stuart* ; XI. *factorul Rosental* ; XII. *factorul Hageman* ; XIII. *factorul fibrinostabilizant.*

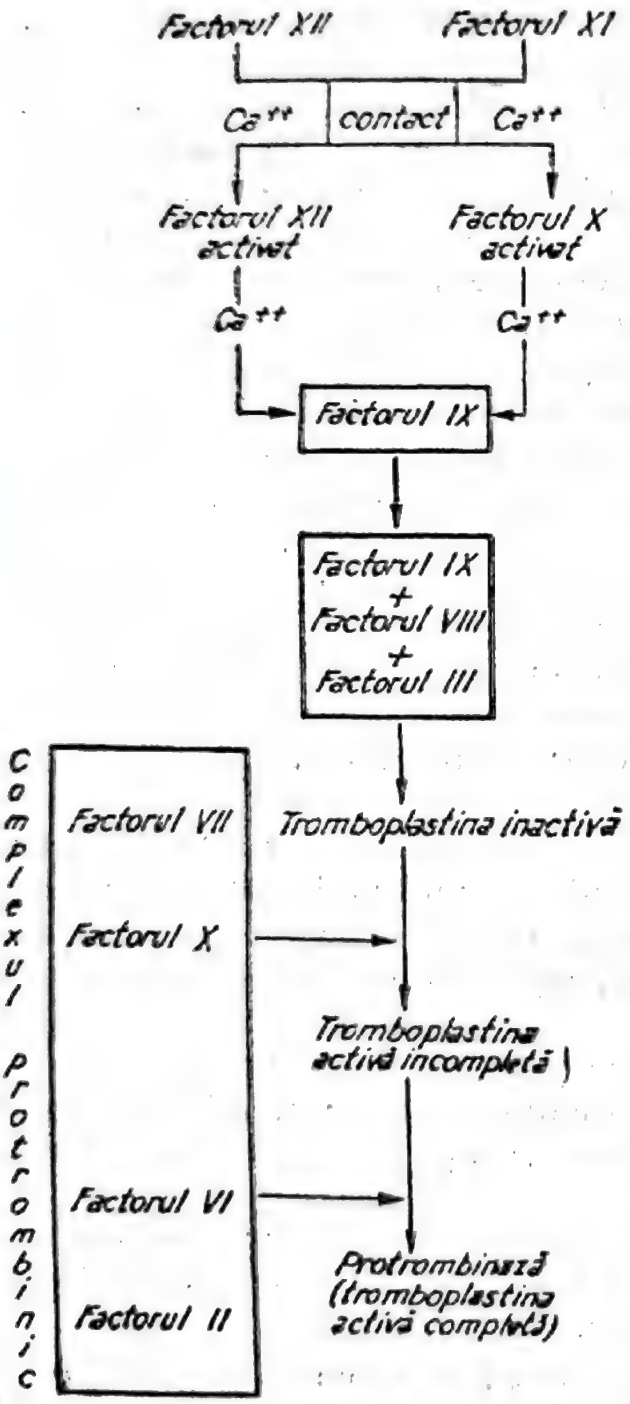


Fig. 37 — Formarea tromboplastinei (după St. Suțeanu).

Coagularea sanguină rezultă din transformarea fibrinogenului în fibrină sub acțiunea trombinei, care provine din protrombină sub acțiunea protrombinazei, datorită unor reacții enzimatice în care intervin factorii plasmatici ai coagulării, factorul 3 fosfolipidic plachetar, calciul ionizat, vitamina K.

Cheagul se formează în 3 etape: A. *formarea tromboplastinei*, B. *trombinoformarea*, C. *formarea fibrinei.*

A. Formarea tromboplastinei active complete (protombinaza) este un complex enzimatic format din : factorul X activat, V (proaccelerina), factorul 3 plachetar și ionii de calciu.

Factorul X este cel mai important ; se activează in vivo pe 2 căi : extrinsecă și intrinsecă.

— Calea extrinsecă : factorul III (tromboplastina tisulară) este eliberat de țesuturile lezate în cantitate mică.

— Calea intrinsecă (fig. 37) necesită prezența tromboplastinei tisulare și începe prin activarea factorului II, care convertește factorul XI — Stuart în forma activă, care, la rîndu-i, activează factorul IX ; acesta, împreună cu factorul VIII și cu factorul III plachetar, în prezența ionilor de calciu, formează tromboplastina inactivă care, sub influența

factorului X, se transformă în tromboplastină activă incompletă; aceasta, sub acțiunea factorului VI, trece în tromboplastină activă completă (protrombinaza).

Această etapă este investigată prin: a. timpul de coagulare (normal 8—15 minute); b. timpul Howell (timp de recalcifiere plasmatică) — normal 1,30—2,30 minute; c. consumul de protrombină (normal în ser doar urme de F II); d. testul Biggo și Douglas (testul de generare a tromboplastinei) pentru diagnosticarea hemofiliilor A și B; e. testul cu cefalină caolin (PTT). Normal, timpul este de 50—70 secunde.

B. *Trombinoformarea* constă în transformarea F. (II) protrombinei în trombină, sub influența trombokinazei, în prezența factorilor VI, VII, X; pentru sinteza în ficat a factorilor VI, VII, IX, X este necesară prezența vitaminei K (fig. 38).

Această etapă este investigată prin *timpul Quick*.

Unii autori (73) consideră că vitaminele K participă în biosinteza protrombinei, într-o etapă care are loc după traducerea mesajului m-

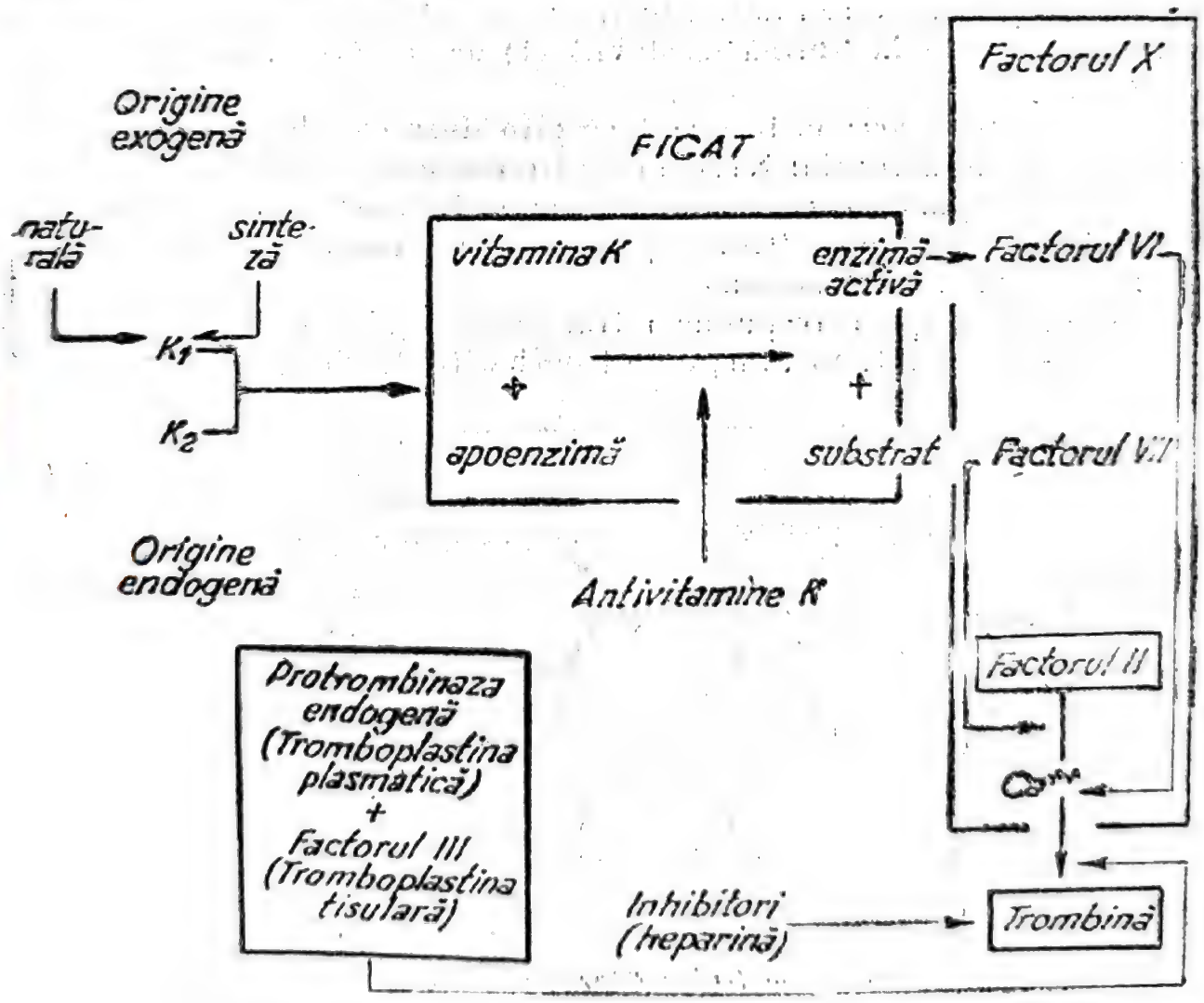


Fig. 38 — Formarea trombinei (după St. Suțeanu)

ARN în secvența aminoacizilor din proteină (transcripției); se presupune că m-ARN ar determina sinteza unei *preprotrombine* în stare născîndă, care pătrunde în membrana reticolului endoplasmatic, unde se află o vitamin-K-reductază-NADH- dependentă, care influențează reducerea vitaminei K (chinonă) la hidrochinonă (fig. 39). Sub această formă, în prezența CO_2 și O_2, are loc carboxilarea selectivă a unor resturi de acid glutamic (Glu) din protrombină, cu formarea acidului γ-carboxiglutamic (Gla), care este prezent în diferite protrombine. Antivitaminele K blochează această etapă în cursul reacției de carboxilare a Glu ; se formează vitamina K-chinonă, care este redusă la hidrochinona corespunzătoare (ce participă la un nou ciclu), în timp ce aglicoprotrombina carboxilată leagă resturi glicozidice și sialice sub influența glicoziltransferazei, formînd astfel molecula protrombinei definitive, care trece în plasmă (fig. 39).

C. *Formarea fibrinei.* Transformarea fibrinogenului în fibrină se face astfel : datorită acțiunii proteolitice a fibrinei, se eliberează fibrinopeptidele A și B din fibrinogen, apărînd monomerul de fibrină (fig. 40), care se polimerizează în fibrină instabilă solubilă (fibrina S) ; aceasta este transformată în fibrină insolubilă (I) de factorul XIII, activat de trombină.

Investigația acestei faze se face prin dozarea fibrinogenului (normal 3—5‰), a factorului XIII și prin trombelestogramă (54).

III. *Timpul trombodinamic.* În această fază se formează complexul enzimatic protrombinaza (tromboplastina activă completă), care transformă protrombina în trombină.

Această etapă corespunde retracției cheagului și fibrinolizei. Retracția cheagului este în funcție de trombocite, fibrinogen și hematocrit

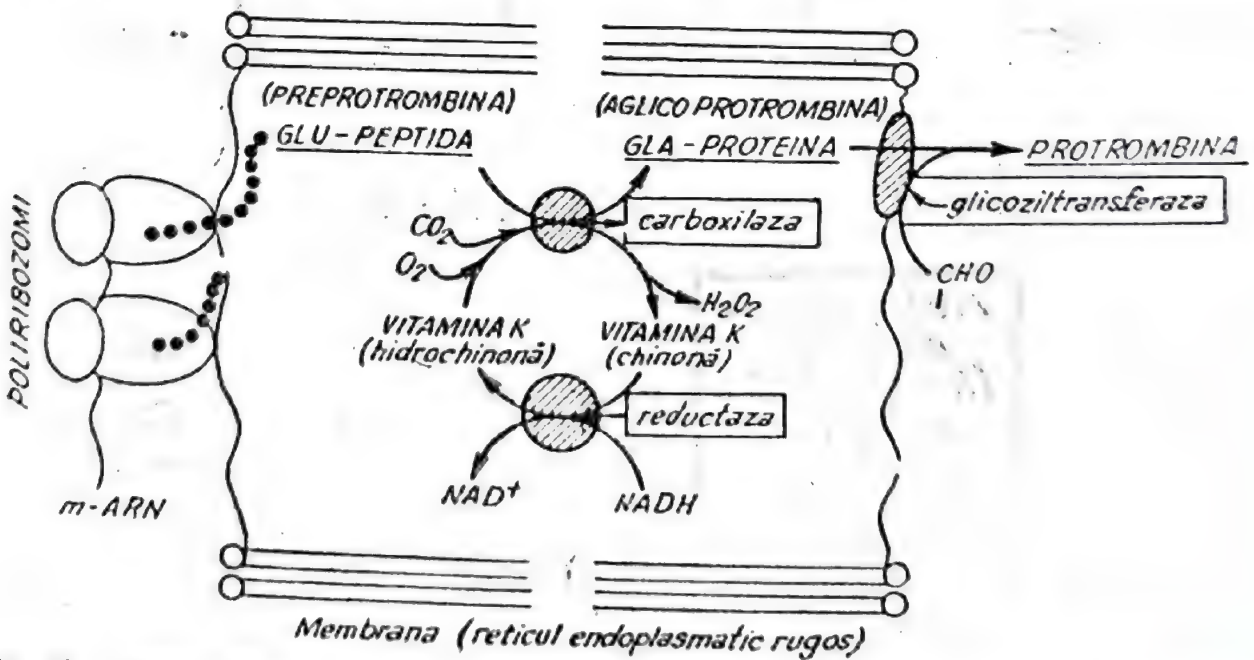


Fig. 39 — Rolul vitaminelor K, în transformarea protrombinei (după N.A. Harper).

și se investighează prin determinarea timpului de retracție a cheagului prin tromboelastografie.

Fibrinoliza este procesul care duce la dispariția cheagului de fibrină in vivo sau în vitro ; datorită fibrinolizei se desobstrucează vasele sanguine.

Explorarea fibrinolizei se face prin : determinarea produșilor de degradare ai fibrinogenului și liza cheagului euglobulinelor plasmatice.

Mecanismul intim molecular de acțiune a vitaminelor K în procesul de formare al factorilor : protrombină (II), proconvertină (VII), Christmas (IX), Stuart (X) nu este cert edificat pînă în prezent (fig. 41), ca și transcrierea mesajului genetic la ARN-mesager, biosinteza ribozomală a acestor proteine, activarea unor precursori inactivi în factori activi corespunzători, ce intervin în coagulare (fig. 42).

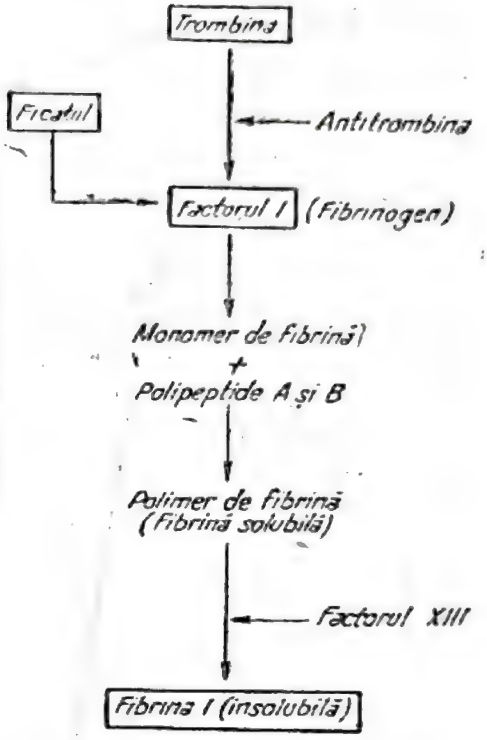


Fig. 40 — Formarea fibrinei.

Carența de vitamină K are drept urmare apariția sindromului de hipoprotrombinemie, care se manifestă clinic prin scăderea coagulabilității sîngelui, ce poate duce la diverse hemoragii (hematemeze, gingivoragii, epistaxis, melenă etc.). În această fază, timpul Quik scade sub 30% din normal.

Metabolismul vitaminei K este modificat în mai multe moduri : a. Tulburările aportului de vitamină K se întîlnesc rar, întrucît flora microbiană intestinală asigură prin biosinteză proprie, în mare măsură, nevoile organismului. La nou-născut, care nu posedă floră microbiană necesară biosintezei, se constată o hipoprotrombinemie fiziologică de 60—70%. În primele 2—3 zile după naștere, colonul primește o dată cu alimentația și flora microbiană necesară biosintezei vitaminei K. b. Absorbția intestinală a vitaminei K poate fi cauzată de tranzitul intestinal accelerat (diaree, dizenterie, colite, administrări de purgative), de sindromul de malabsorbție sprue, de absența din intestin a bilei (icter mecanic, infecțios, fistulă biliară) sau a sucului pancreatic, precum și de infecții și parazitoze intestinale. c. Transportul de vitamină K spre ficat este dereglat în diverse afecțiuni (flebite, compresiuni portale, ciroze și tromboze). d. Diverse leziuni ale paren-

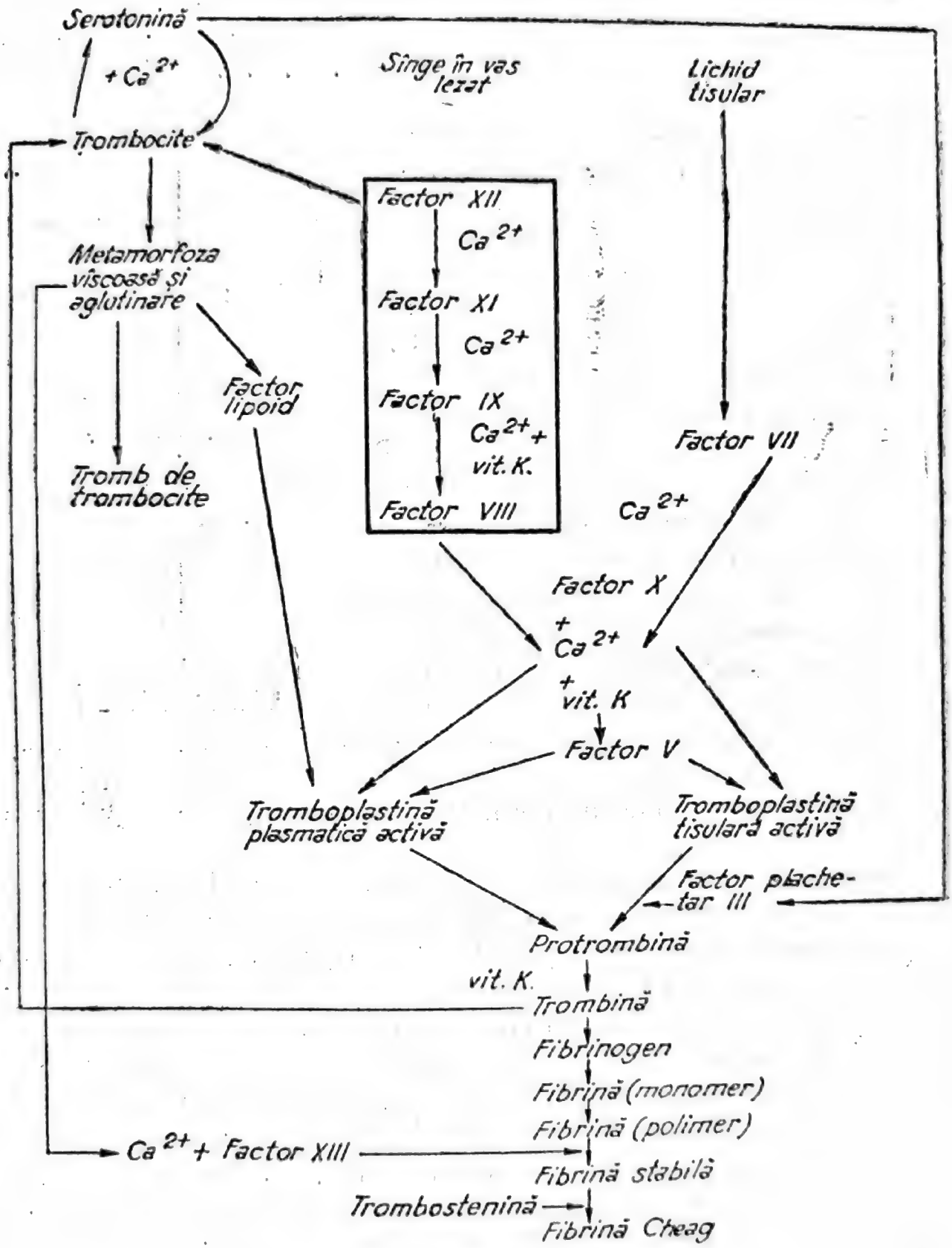


Fig. 41 — Rolul vitaminelor K în procesul coagulării sîngelui.

Scanned with OKEN Scanner

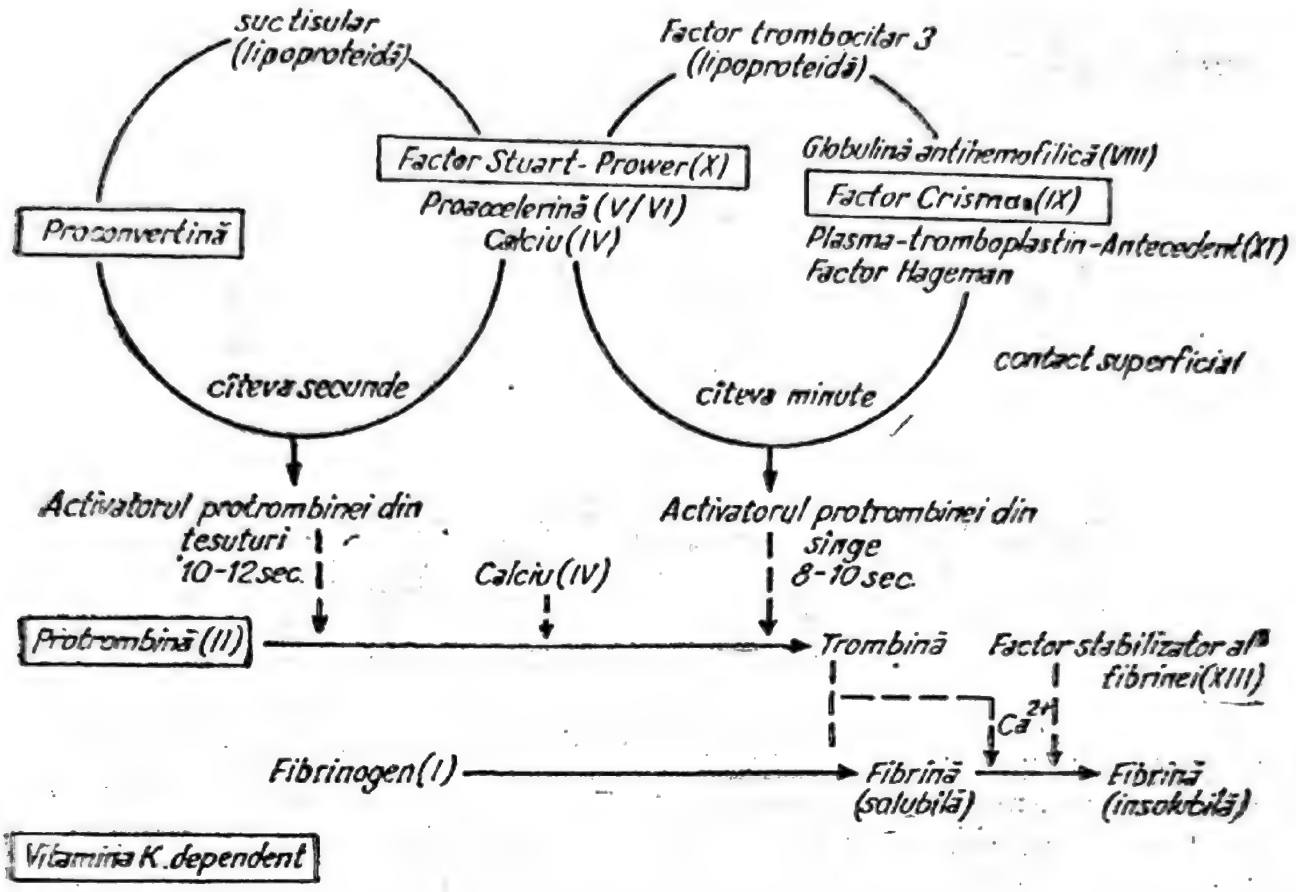


Fig. 42 — Schema coagulării sanguine după Egli, modificată.

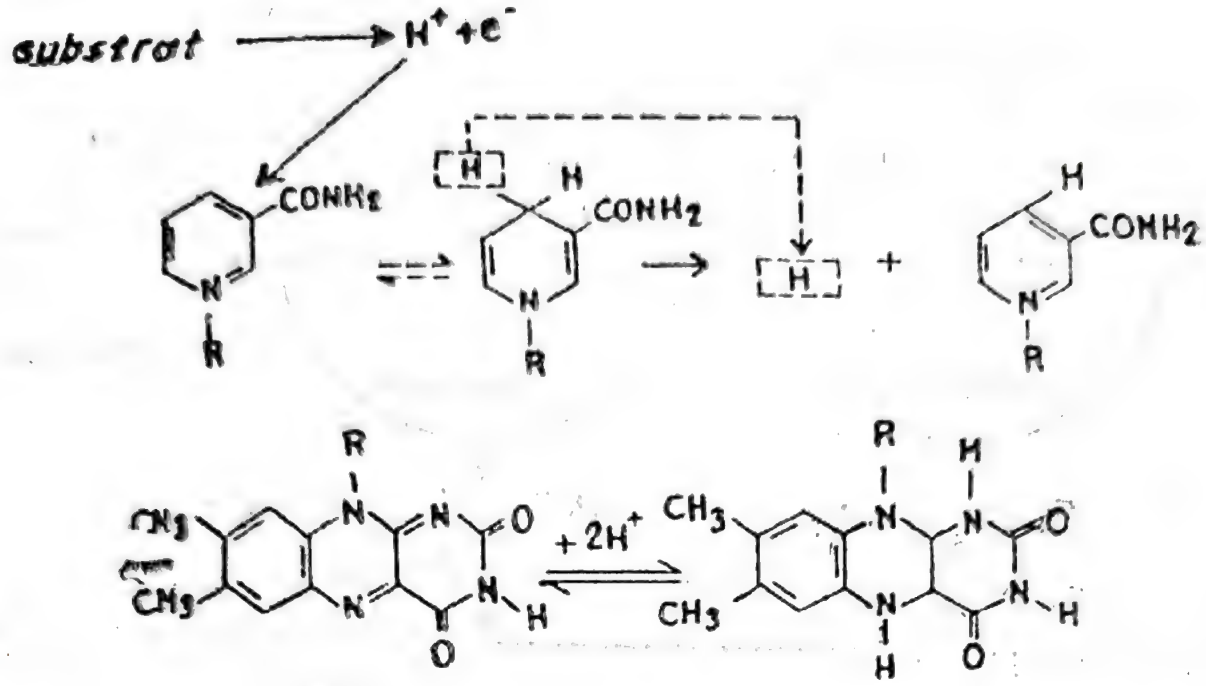
chimului hepatic au, ca urmare a deficienței utilizării vitaminei K, hepatite toxice sau virotice, ciroze atrofice sau hipertrofie. În aceste condiții are loc o biosinteză insuficientă a complexului protrombinic, în special proconvertina și factorul Stuart-Prower ; dacă în stările precirotice este scăzută proconvertina, în ciroză, pe lîngă convertină, se adaugă și deficitul de protrombină și proaccelerină.

5.10.1.2. *În oxidoreducerile tisulare.* Vitaminele K iau parte la procesul de oxidare celulară, intervin în lanțul respirator, care este un proces intracelular catalizat de sistemele enzimatice.

Enzimele respiratorii transferă, prin etape succesive, hidrogenul substratului pe oxigenul molecular. Sistemele enzimatice desfac, prin dehidrogenare de pe substrat, hidrogenul în proton (H^+) și electron (e). Aceștia se fixează pe enzimele — NAD — dependente (Co_2 I, Co II), de unde, printr-un proces de reducere, cedează hidrogenul flavin-enzimelor (77).

Hidrogenul de la flavin-enzime trece din starea atomică în proton care rămîne în mediu și acționează cu oxigenul molecular, și un electron,

Scanned with OKEN Scanner



care este transmis mai departe, în lanțul de respirație, sistemelor de oxido-reducere și anume, citocromilor b, c, a, a_3 din hem-enzime (fig. 43).

Flavin-enzima redusă, transmițînd electronul citocromilor, revine la forma sa oxidată, iar citocromii, primind electronii, sînt reduși.

Citocromii își transmit electronii reversibili după modul de acțiune b→c→a→a_3. Electronul este transmis de citocromul a_3 (citocrom-oxidaza) oxigenului molecular, activîndu-l în oxigen ionic O^{2-} activ care, în asemenea condiții, se unește cu H^+ rămas în mediu din primele dehidrogenări, formînd apa care este rezultanta oxidării celulare (55).

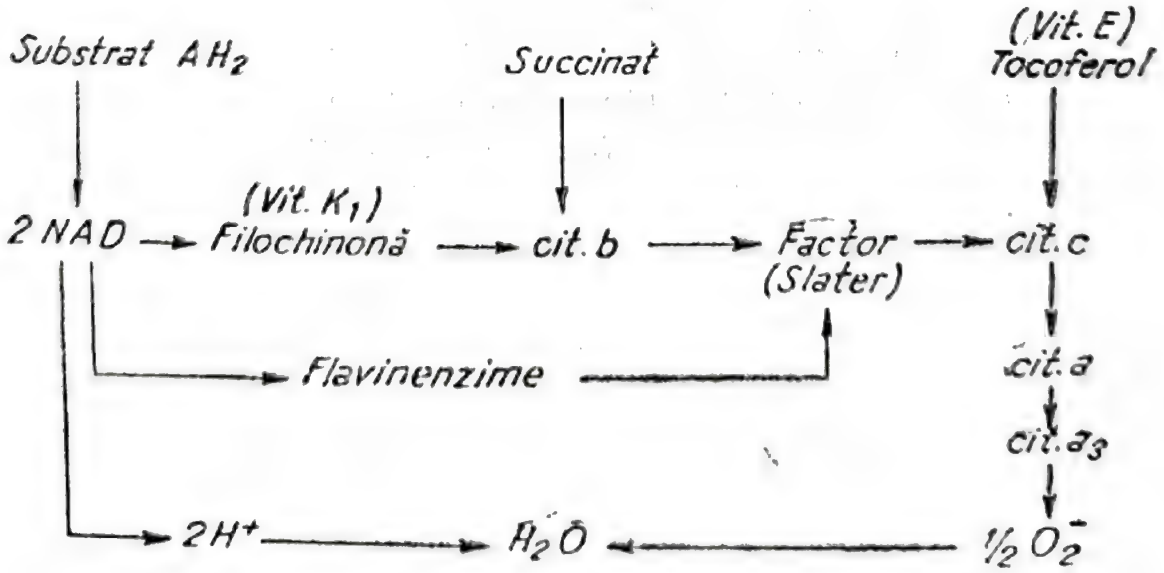
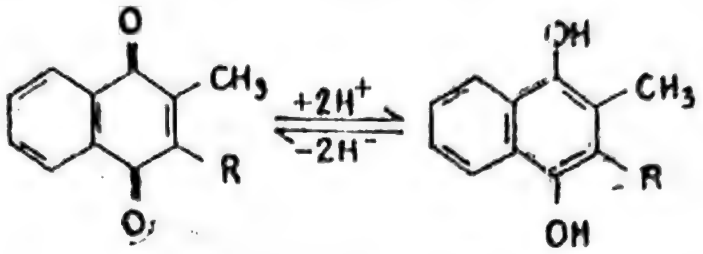


Fig. 43 — Intervenția vitaminelor K în lanțul respirator.

C. Martius arată că în catena de oxidație intervine și vitamina K, a cărei structură chimică îi dă capacitatea să acționeze ca un sistem redox:



FORMA OXIDATĂ FORMA REDUSĂ

Cînd filochinona a fost oxidată, ea poate, la rîndul ei, oxida NADH prin enzima filochinonreductaza, care este specifică. Filochinona, devenind astfel redusă, poate fi reoxidată de citocromul b (53).

Intervine, de asemenea, în transportul de protoni sau electroni, de la difenoli la citocromul C sau la acid ascorbic, sau de la glutation la chinonă.

În catena de respirație celulară participă și tocoferolul (vitamina E) care, datorită nucleului croman din moleculă, funcționează ca oxireducător la nivelul transferului de electroni de pe cit. b. pe cit. c.

Datorită structurii chimice, intervine în potențialul redox celular, împiedicînd melanogeneza (vezi cap. 3.18.3 „Melanomul și vitamina E").

C. Martius este de părere că filochinona participă și în lanțul respirator, cuplat cu fosforilarea oxidativă, bazîndu-se pe faptul că, în avitaminoza K_1, fixarea fosfatului este scăzută (13, 78) (fig. 44). Experiențele cu izotopi radioactivi (77) au dus la concluzia că vitamina K este capabilă să refacă fosforilarea oxidativă în sistemele bacteriene și mitocondriile din ficatul de șobolan, care au fost iradiate. Ficatul puilor de găină, carențați în vitamină K, a avut o fosforilare oxidativă scăzută, care a fost restabilită prin vitamina K. Aceasta a sugerat că chinona din vitamina K activează lanțul fosfatic cu un mecanism ciclic, provocînd conversia unui 2—3-metil-3-poliprenoid-chinonă, avînd ca intermediar metil-chinona.

Vitaminele K intervin în potențialul redox de transformare a radicalului SH (sulfhidril) al metaboliților cu sulf în -S-S-(ditio), astfel că fibrinogenul devine fibrină.

De asemenea, se consideră că vitamina K intervine, prin sistemul carboxilazei vitamin-K-dependent, și în sinteza osteocalcinei, unde aceasta este implicată (73).

Scanned with OKEN Scanner

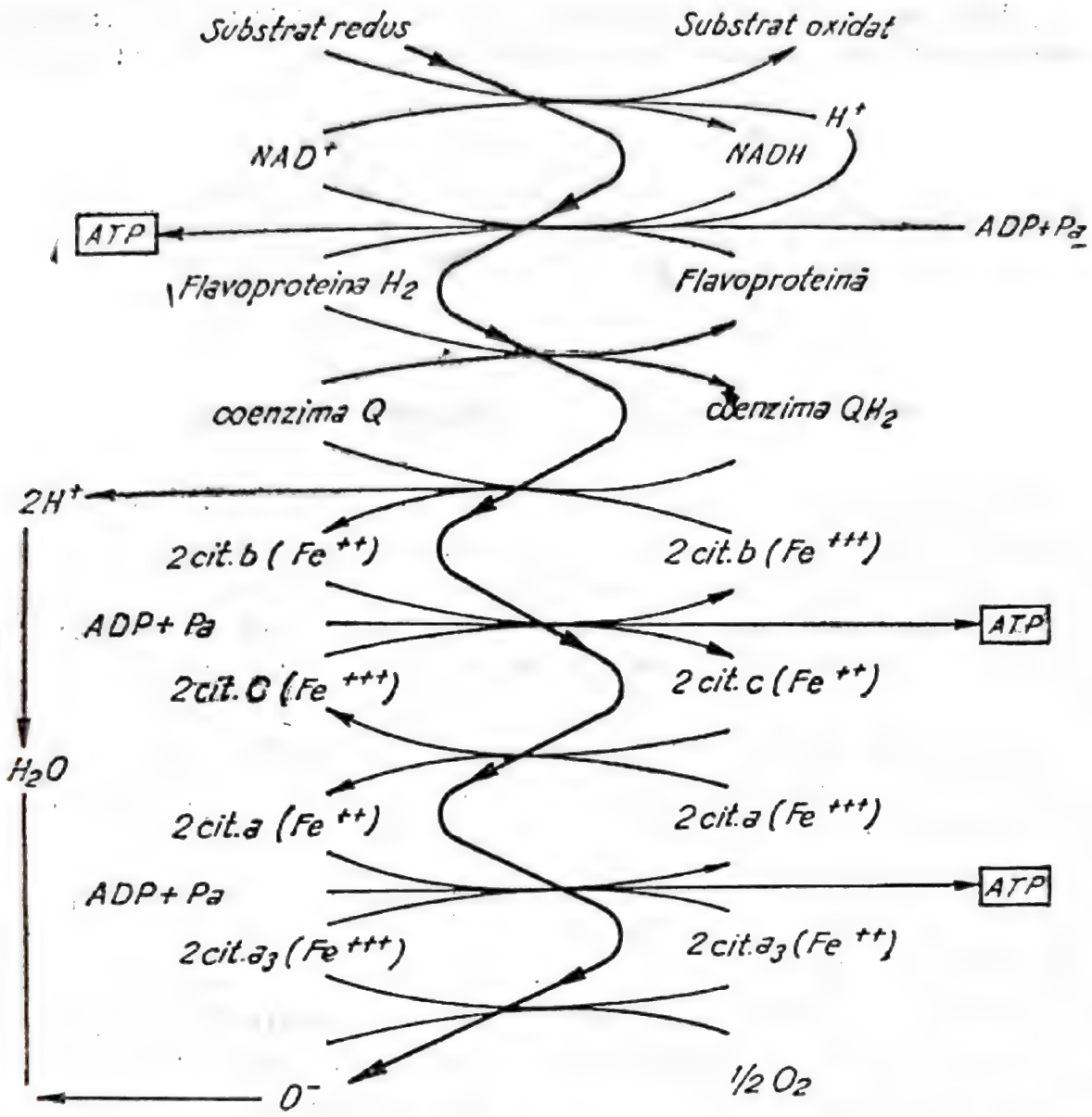


Fig. 44 — Lanțul respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă (linia îngroșată = transportul de electroni).

5.10.2. **Repartiția în organism.** În ceea ce privește repartiția în organismul animal, s-a stabilit că doze masive de vitamină K_1, injectate sub formă de dispersie în apă, la pui și șobolani dau loc la o fixare a acestei vitamine în unele organe. Dozările colorimetrice au relevat că 70% din cantitatea injectată se regăsește în ficat și splină, 1% în rinichi și pulmon, iar în piele, sînge, mușchi cantitățile sînt mici; în bilă nu s-a găsit (101—105).

5.10.3. **Unități de activitate.** Pentru aprecierea activității preparatelor care conțin vitaminele K, au fost alese ca substanțe standard vitamina K_1 și menadiona.

Scanned with OKEN Scanner

Unitatea Internațională „standard" de vitamină K corespunde la 1 μg menadionă=244 U. Dam. O Unitate Dam este cantitatea de vitamină K/Kg. de greutate corporală, care normalizează în 3 zile coagularea sîngelui la puiul de găină în stare de avitaminoză. 1 U Dam=0,14 μg vit. K_2=0,04 μg vit. K_3.

5.10.4 Necesarul și fiziopatologia vitaminei K

5.10.4.1. *La om.* Nou-născutul în primele zile are nevoie o cantitate foarte importantă de vitamină K, întrucît la naștere nu are o floră microbiană intestinală capabilă să biosintetizeze vitamina K; el folosește în acest timp rezervele oferite în perioada intrauterină. În cursul primei săptămîni de viață, protrombinemia este scăzută (hipoprotrombinemie fiziologică); concentrațiile cele mai scăzute după naștere sînt între 10—40% și se constată din a 48-a pînă în a 72-a oră la copiii normali.

Carența de vitamină K din perioada intrauterină se manifestă la nou-născuți prin: diateză hemoragică, în special la pielea din regiunea axilară a brațelor, a ombilicului, a nasului, prin hematemeză și melenă. Cele mai periculoase hemoragii sînt cele intracraniene (85, 86). În diateza hemoragică s-a observat că primul simptom este hemoragia intestinală. De aceea, imediat după naștere, se administrează profilactic nou-născutului cîte 1 fiolă a 1 ml, soluție 1% zilnic, timp de 3 zile. O doză dublă se recomandă la copiii a căror mamă a făcut tratament cu anticoagulante înainte de naștere. Nu trebuie să se administreze cantități mai mari decît cele indicate, întrucît apare pericolul unei hiperbilirubinemii și a icterului nou-născutului, care sînt datorate, foarte probabil, acțiunii unor metaboliți incomplet cunoscuți ai menadionei.

Ulterior, sugarul își ia prin laptele matern o cantitate de vitamină K (0,33 mg/zi), la care se adaugă și cea produsă de flora microbiană intestinală. În această fază, doza zilnică necesară pentru sugar este de 1,2 μh vitamină K_3 (2-metil-1-1,4-naftochinonă) sau 5 μh sare terasodică a 2-metil-1,4-naftohidrochinonă (Sincavit-Roche, Elveția).

Necesarul la adult, în condiții normale, este de 1 mg menadionă i. v. zilnic.

Stările patologice mai pot surveni, în afara cauzelor descrise anterior, prin modificarea metabolismului și după tratament cu sulfamide, cumarină și derivați cumarinici (warfarina, salicilații și derivații lor etc.), aspirină, acid para-amino-salicilic (PAS) etc.

Tratamentul cu sulfamidă, antibiotice, propiltiouracil, aspirină, acid salicilic, salicilat provoacă reducerea biosintezei bacteriene a vita-

Scanned with OKEN Scanner

minei K și o hipoprotrombinemie de origine medicamentoasă ; de asemenea, tulburările în resorbție, ca urmare a lipsei de bilă, de la nivelul intestinului, datorită unei enterite, a colitei, sprue precum și afecțiunilor hepatice, duc la o utilizare insuficientă a vitaminei K resorbite pentru formarea protrombinei.

La adult, dar mai ales la femeie în perioada gravidității, sindromul hemoragic este provocat de carența în vitamina K_1, care se manifestă, în special, în piele, hipoderm și mucoasă și, mai ales, la cap, gît, torace, spate și în regiunea articulațiilor.

Se mai poate observa o deficiență de vitamine K în infecții : pneumonie, tuberculoză pulmonară evolutivă și în stările febrile prelungite, ca și după tratamentul îndelungat al acestora.

De asemenea, apar epistaxis, metroragii și hemoragii intestinale, hemoptizii, purpură, hematoame, ca și hemoragii urinare, care sînt foarte periculoase. Hipovitaminoza K are ca urmare apariția sindromului de hipoprotrombinemie, care se manifestă clinic prin scăderea coagulabilității sanguine.

La bolnavii care urmează a fi operați se impune dozarea timpului de protrombină, pentru a se înlătura hemoragiile cauzate de hipotrombinemii necunoscute.

Necesarul de vitamină K crește concomitent cu ridicarea temperaturii mediului exterior.

Existența avitaminozei este afirmată prin *testul biochimic.*

În afara *testului de coagulare* (timpul *normal* = 8—15 min.) mai semnalează avitaminoza și scăderea *nivelului protrombinei* plasmatice. Necesarul, în cazurile patologice, poate crește de 4—8 ori.

5.10.4.2. *La păsări și animale.* La păsări, stările patologice, din lipsa de aport vitaminic K, apar mai frecvent, deoarece biosinteza intestinală a vitaminei K este limitată. Întrucît intestinul este mai scurt la păsări, este necesar suplimentul de vitamină K_1 din plante (făină de lucernă, trifoi) sau din făină de pește.

La tineretul aviar, leziunile de carență apar cel mai frecvent, deoarece lipsa din hrană a vitaminei K, timp de 10—15 zile, determină apariția petelor hemoragice pe picioare, piept, aripi, cavitatea abdominală, culoarea roșie a materiilor fecale (în afara parazitozelor), albăstreala urechiușelor la puii de găină mari (72, 108).

Proba garoului sau smulgerea perilor este însoțită de apariția petelor hemoragice sau a hemoragiei externe. Simptomele se datorează carenței vitaminei K, care a dereglat coagularea sanguină ce se manifestă prin mărirea timpului de coagulare și a timpului de protrombină.

La animale apar mai greu simptomele de carență vitaminică K, datorită biosintezei de la nivelul intestinului (aportul endogen), totuși

Scanned with OKEN Scanner

la rumegătoarele mari s-a constatat, în cistita hematurică, hipoprotrombinemie, care a fost normalizată prin administrare de vitamină K.

La cîine și porc, sindromul hemoragipar de carență a vitaminei K trebuie diferențiat, de cel din avitaminoza C (scorbut), pe care aceste două specii îl fac, prin timpul de protrombină ce nu este modificat în scorbut.

Analiza condițiilor de alimentație, a diverselor enterohepatopatii, precum și a diferitelor tratamente antiinfecțioase, chimiterapice, a deratizărilor cu warfarin, pe lîngă semnele de anemie și sindromul hemoragipar, orientează diagnosticul spre carența vitaminei K, confirmat prin prelungirea timpului de protrombină sau Quick.

În experimentările pe șobolani supuși unor diete lipsite de vitamină K, trebuie înlăturată posibilitatea coprografiei ; simptomele de carență se manifestă prin hemoragii musculare, intestinale, la nivelul seroaselor etc. (72).

Experimental, ligaturarea coledocului conduce la fenomene hemoragice.

5.11. Compuși chimici cu proprietăți asemănătoare vitaminelor K

J. Almquist și A. Klose (78, 79) au arătat, în 1939, că ftiocolul (2-metil-3-hidroxi-1,4-naftochinona) are o acțiune vitaminică slabă și, tot în același an, S. Ansbaker și E. Fernholtz (80, 81) au demonstrat că vitamina K_3 are un efect mai bun decît filochinona.

O serie de cercetători (82—84) au găsit noi sinteze, ale căror produse au aceeași utilizare terapeutică ca și vitaminele K. Dintre acestea, amintim formele esterice ale menadionei ca diacetat, disuccinat, dibutirat, disulfat, care au înlocuit vitamina K_1 naturală, fiind mai solubile în apă decît aceasta.

De asemenea, mai au acțiune vitaminică și o serie de substanțe din grupele :

I. 2-metil-alchil și 3'-β-alchienil-1,4-naftochinona
   2-metil-3-geranil-1,4-naftochinonă
   2-metil-3-benzil-1,4-naftochinonă
   2-metil-3-hidrocinamil-1,4-naftochinonă ;

II. 2-alchil și 2-β -alcienil-1,4-naftochinonă :
   2-fitil-1,4-naftochinonă
   2-farnesil-1,4-naftochinonă
   2-alil-1,4-naftochinonă ;

III. diferite chinone :
   2, 3, 5-trimetil-6-fitil-1,4-benzochinonă
   2, 5-dimetil-benzochinonă ;

Scanned with OKEN Scanner

IV. derivații hidrochinonici :
natriu-2-metil-1,4-naftohidrochinon-disulfat
diacetat de 2-metil-1,4-naftohidrochinonă
dibenzoat de 2-metil-1,4-naftohidrochinonă
vitamina K_1 hidrochinon-diacetat
vitamina K_2 hidrochinon-diacetat ;

V. au mai fost sintetizate și următoarele produse cu proprietăți asemănătoare vitaminei K :
2-etil-3-fitil (85, 86)
2-metil-3-geranil (88, 106, 107)
2-metil-3-farnesil (67, 89)
2-metil-3-fitil-5,8-dihidro (67, 89)
2-metil-3-dihidrofitil-5, 6, 7, 8-tetrahidro (67, 90)
2-metil-3-octadecil-1,4-naftochinonă (91, 92).

Cercetările efectuate asupra activității acestor substanțe, obținute pe cale sintetică, au ajuns la concluzia că nu toate au aceeași activitate vitaminică (tabelul 46).

Tabelul 46

Activitatea vitaminei K și a derivaților (93)

Compuși	Activitate (U/mg)
1,4-naftochinonă	1
diacetil-1,4-naftohidrochinonă	0,5
2-metil-1,4-naftochinonă	25 000
2-etil-1,4-naftochinonă	8
2-fitil-1,4-naftochinonă	50
2-metil-3-dihidrofitil-1,4-naftochinonă	500
ftiocol	2
2-metil-1-hidroxi-4-amino-naftalen-HCl	10 000

5.12. Relațiile vitaminelor K cu alte vitamine

Y. Raoul și R. Ragheb-Hanna (94) constată că un exces de vitamină D, dizolvată în apă și administrată la șobolani în injecții s.c. de 3 ori/săptămînă, cîte 0,2 mg, ameliorează timpul de coagulare, coborît de o puternică hipovitaminoză A. Această observație a îndreptat atenția către o corelație dintre vitamina A și K, dar experiențele au dat rezultate contradictorii. După R. Rodahl (95), administrarea de vitamină K nu se opune hemoragiei provocate printr-o hipervitaminoză A. Alți autori (96, 97) formulează o concluzie diametral opusă, aducînd la cunoștință

o hipotrombinemie observată în hipervitaminoza A. După E. Walker și col. (96), rezultatele experiențelor sînt redate în tabelul 47.

Tabelul 47

Interrelația vitamină K — vitamină A (96)

REGIM ALIMENTAR	Protrombină plasmatică (timp de coagulare în sec.)	
	șobolani tineri (cca. 80 g)	șobolani adulți (150—200 g)
Regim de bază	31	34
Exces de vitamină A	70	180
Exces de vitamină A+E	30	19

J. Light și col. (97) au arătat, în primul rînd, că accidentele hemoragice pot fi corijate prin administrarea convenabilă de vitamină K. Acești autori constată că timpul de coagulare crescut în hipervitaminoza A scade dacă se administrează, în același timp, și vitamina K.

W. Tomasezewski și C. Engel (98) menționează că la puii cu avitaminoză K, conținutul în vitamina C nu este deosebit de scăzut, totuși administrarea de vitamină K îl ridică mult.

T. Matschiner și A. Doisy (100) au observat că protrombina arată necesarul în vitamină A a șobolanilor și aceasta depinde de cantitatea de vitamină adusă prin regimul alimentar.

5.13. Interacțiuni cu medicamente

Uleiul de parafină diminuează absorbția vitaminei K, ducînd la apariția simptomelor de hipo-și avitaminoză, precum și la riscul de potențare a efectului medicamentelor anticoagulante (99).

În general, toate purgativele au aceeași interacțiune.

5.14. Preparatele farmaceutice și indicațiile terapeutice la om

Preparatele farmaceutice principale, ce se găsesc sub denumirea de **Vitamina K**, sînt ; **Vitamina K_1** (Fitomenadiona): sinonime Filochinona metil-fitil-naftochinona (2-metil-3-fitil-1,4-naftochinonă) ;

Konarion (Roche), vitamina K_1, se prezintă în soluție apoasă (ph=5—7,5), în fiole a 1 ml, ce conțin 0,010 g vitamină K_1, sterilizate prin autoclavare.

Vitamina K_1 naturală (obținută și prin sinteză) acționează antihemoragic, prin favorizarea sintezei hepatice a protrombinei și procon-

Se prezintă ca o pulbere higroscopică, albă pînă la roz, cu miros caracteristic, foarte solubilă în apă, insolubilă în alcool. Soluția apoasă este neutră sau slab alcalină (pH=8). Se păstrează la loc răcoros, protejat de lumină, în vase etanș.

Utilizări: în tratamentul hipotrombinemiei mai puțin severe, administrat per os sau injectabil s.c. sau i.v.

Pentru prevenirea bolilor hemoragice, în condițiile icterului obstructiv sau steatoree, în timpul curelor prelungite cu salicilați se administrează 5—10 mg/zi.

Pentru prevenirea bolilor hemoragice ale nou-născutului se pot prescrie la gravide 10 mg/zi per os, cu 3—4 zile înainte de naștere sau 5 mg, injectabil în timpul nașterii.

La nou-născuți și copii se preferă fitomenadiona. Preparate: fiole a 1 ml conținînd 5—10 mg soluție apoasă și 75 mg în fiole a 2 ml (pH=7,5—8,5); tablete a 5 și 10 mg; toate se păstrează la întuneric. Se utilizează în doze de 100 mg injectabil ca „radiosensitiser" în tratamentul tumorilor maligne.

SYNCAVIT (Roche) este Menadion-difosfat-anhidru în tablete de 1 ml (cu 12,63 mg) și 2 ml (cu 126,3 mg).

Efecte secundare: ocazional, pot apare disconfort gastric, reacții alergice cu erupții cutanate, iar la nou-născuți poate apare hiperbilirubinemia.

Alte denumiri înregistrate: Kappadione, Synakvyte (S.U.A.).

Hipervitaminoza K poate apare la doze ce depășesc 100 mg/zi, cu următoarele simptome: albuminurie, porfirinurie, methemoglobinemie, hiperprotrombinemie, ce duc la tromboze acute.

5.14.1. **Medicamente cu acțiune asemănătoare a vitaminelor K**

Acetomenaftona (Acetomenaphtone, (B. P.), Acetomenaph, Acetomenadone, menadioldiacetat-1,4-diacetoxi-2-methylnaphtalene. $C_{15}H_{14}O_4$=258,3 (Pharmacopeea Ind., Iug., Arg., Aust., Belg., Braz., Fr., Germ., Mex. Swisz., Neth., Roum., SUA).

Se prezintă ca o pulbere cristalină albă cu gust amar, fără miros sau foarte slab de acid acetic, ușor solubilă în alcool.

Are acțiune și utilizări similare cu ale fitomenadionei, dar cu efecte mult mai slabe. Este administrată per os, sub formă de tablete, în: profilaxia hemoragiilor prenatale, în doze de 5—10 mg/zi, timp de 7 zile înainte de naștere; în boala hemoragică a nou-născutului: după 24 ore de la naștere se injectează 1 mg.

În perioada preoperatorie a icterului obstructiv se administrează 5—10 mg/zi, timp de 6 zile.

În scleroza multiplă și în distrofia musculară, în injecții i.m., 150 mg/zi în primele 7 zile, apoi la 3 zile, timp de 6 zile, a întîrziat foarte mult procesul și avansarea distrofiei.

Scanned with OKEN Scanner

vertinei ; efectul este mai rapid, mai intens și mai prelungit decît în cazul analogilor de sinteză. Această vitamină reprezintă medicația în intoxicația acută cu anticoagulante cumarinice (de la 0,010—0,100 g), cu urmărirea timpului de protrombină.

Se administrează profilactic sau curativ în diferite sîngerări, prin hipoprotrombinemie sau hipovitaminoză K, ce apar la nou-născut, în timpul tratamentului cu salicilați, în icterul obstructiv, în bolile hepatice sau intestinale (colite, dezinterie etc.), precum și în cazul folosirii îndelungate de antibiotice (în special tetracicline, cloramfenicol) sau sulfamide, administrate per os (sulfaguanidină, ftalilsulfatiazol).

VITAMINA K_1 mai este utilizată în tratamentul hemoragiilor severe, datorită unei concentrații scăzute de protrombină, cauzată de terapia cu anticoagulante, derivați ai cumarinei, cum ar fi warfarina, sau derivați de indanedionă, cum ar fi fenidiona.

Este administrată de obicei în injecții i.v., în doze de 5—20 mg, care pot fi repetate, dacă este necesar, la cîteva ore. În condiții mai puțin severe poate fi injectată în aceeași doză s.c., i. m. sau pe cale orală, inițial în doze de 5—10 mg și, ulterior, în doze crescînde, dacă este nevoie 15—20 mg. Dacă tratamentul trebuie continuat se va folosi doza minimă.

În tratamentul bolilor hemoragice ale nou-născutului poate fi administrată i. m. 0,5—1 mg, iar mamei 1—5 mg i.n. sau lent i. v., cu 12—24 ore înainte de naștere.

Necesarul minim pentru copii /zi este de 100—200 μg, iar pentru adult 0,03 μg/Kgcorp (110).

Laptele pentru copii trebuie să conțină 100 μg/l ; se presupune că 10% din vitamina K administrată oral se absoarbe.

În afară de fiole există și capsule cu fitomenadionă.

Preparate brevetate : AQUAMEPHYTON (Merck) fiole a 1 ml, ce conțin 10 mg vitamină K_1 în soluții coloidale apoase. KONAKION fiole a 0,5 ml, ce conțin 1 mg vitamină K_1 ; fiole a 1 ml, cu 10 mg și tablete ce conțin 10 mg vitamină K_1.

MENATETRENONA (Menatetren 2-metil-3-(3, 7, 11, 15-tetrametilhexadeca-2, 6, 10, 14-tetraenil-)-1, 4-naftochinonă. $C_{31}H_{40}O_2$ = 444,7, cristale galbene sau lichid uleios. Este una din formele naturale de vitamină K_2. Are aceeași acțiune ca și vitamina K_1 și este folosită în aceleași scopuri.

Doza uzuală este de 10—20 mg injectată i. m. sau lent i. v.

Denumiri înregistrate : Kaytwo (Eisai Japonia).

Vitamina K_3 — (Menadiona ; metil- naftochinona, menaafien) (Pharmacopeele Arg., Aust., Belg., Fr., Germ., Ind., Mex., Neth., Roum., Swiss, USA).

Există sub formă de tablete, ce conțin 2,5 și 10 mg menadionă și fiole a 1 ml, cu soluții sterile de 2 sau 5 mg menadionă în etilobat sau ulei.

Scanned with OKEN Scanner

Vitamina K_3 soluție apoasă 1% în fiole a 1 ml (2 metil-1-1, 4-naftochinonă sintetică) ; ↓ sinonime : Hemodal (Hoechst-R.F.G). Acetomenaphton (RPP), Syncavit (Roche, Elveția), Mephyton (Merck-Sharp, S.U.A).

La depozitare prelungită soluțiile devin galbene și se formează precipitat ; descompunerea este accelerată de lumină și căldură. Soluțiile au fost mai stabile sub pH 2,5. Adăugarea de NaCl mărește stabilitatea soluțiilor injectabile.

Soluțiile care conțin 0,2% metabisulfit de sodiu și 0,7% NaCl, sterilizate prin filtrare și închise în fiole sub aer, au ca termen de valabilitate $2^1/_2$ ani la 20° și $1^1/_2$ ani la 30°C.

Preparatul MENADIONE SODIUM BISULFITE (Kavitanum) se prezintă ca o pulbere fără miros, de culoare albă cristalină higroscopică, insolubilă în eter, cloroform, benzen, dar solubilă în apă 1 : 2, iar pH-ul este de 4,8—6 a unei soluții în concentrație de 2% ; este puțin solubilă în alcool etilic. Nu se sterilizează prin căldură, întrucît hidrolizează foarte repede la 2-metil-1,4-naftochinonă-3-sulfonat, colorîndu-se în galben, cu formarea unui precipitat și micșorarea pH-ului. Soluțiile se stabilizează cu natriu benzoic sau natriu salicilic.

VITAMINA K SODIUM BISULPHITE INJECTION (Rus P.) este o soluție sterilă apoasă, ce conține 0,2% metabisulfit de sodiu la pH 2—4 ; protejat de lumină. Se prezintă în fiole a 1 ml, cu 5 sau 10 mg și a 10 ml cu 72 mg.

VITAMINA K_3 se administrează în injecții s.c. și i.m., 1—3 fiole/zi, dar se poate injecta și lent, i.v., 2—20 mg/zi, în intoxicațiile acute cu substanțe cumarinice ; injectarea rapidă poate provoca congestia feței, sudorație, senzație de constricție toracică, cianoză și colaps. La copii, se injectează 1—2 fiole/zi, timp de 3 zile, iar la sugari 0,5—1 fiole/zi, timp de 3 zile consecutiv.

Unii autori injectează la 24 de ore o doză dublă de vitamină K_3, pentru a avea certitudinea că, în cazul cînd concentrația protrombinei se menține scăzută, există o leziune hepatocelulară care necesită tratament cu vitamină K.

În anumite cazuri pot apare, la administrare de doze mari, și efecte secundare ; nou-născuții și, mai ales, prematurii sînt foarte sensibili ; doze mai mari de 1 mg pot provoca hemoliză și anemie hemolitică, datorită deficitului de glutation și de enzimă glucozo-6-fosfat de hidrogenază ; de asemenea, hiperbilirubinemie, favorizînd icterul nuclear.

Alte preparate asemănătoare sînt : Hykinone (USA), K. Thrombin (Australia).

MENADIOL-sodiu-difosfat ; menadiol solubil ; 2-metilnaftil-1,4-ilen di (disodiu fosfat) hexahidrat. $C_{11}H_8Na_4O_8P_2.6H_2O = 530,2$.

Se prezintă ca o pulbere higroscopică, albă pînă la roz, cu miros caracteristic, foarte solubilă în apă, insolubilă în alcool. Soluția apoasă este neutră sau slab alcalină (pH=8). Se păstrează la loc răcoros, protejat de lumină, în vase etanș.

Utilizări: în tratamentul hipotrombinemiei mai puțin severe, administrat per os sau injectabil s.c. sau i.v.

Pentru prevenirea bolilor hemoragice, în condițiile icterului obstructiv sau steatoree, în timpul curelor prelungite cu salicilați se administrează 5—10 mg/zi.

Pentru prevenirea bolilor hemoragice ale nou-născutului se pot prescrie la gravide 10 mg/zi per os, cu 3—4 zile înainte de naștere sau 5 mg, injectabil în timpul nașterii.

La nou-născuți și copii se preferă fitomenadiona. Preparate: fiole a 1 ml conținînd 5—10 mg soluție apoasă și 75 mg în fiole a 2 ml (pH=7,5—8,5); tablete a 5 și 10 mg; toate se păstrează la întuneric. Se utilizează în doze de 100 mg injectabil ca „radiosensitiser" în tratamentul tumorilor maligne.

SYNCAVIT (Roche) este Menadion-difosfat-anhidru în tablete de 1 ml (cu 12,63 mg) și 2 ml (cu 126,3 mg).

Efecte secundare: ocazional, pot apare disconfort gastric, reacții alergice cu erupții cutanate, iar la nou-născuți poate apare hiperbilirubinemia.

Alte denumiri înregistrate: Kappadione, Synakvyte (S.U.A.).

Hipervitaminoza K poate apare la doze ce depășesc 100 mg/zi, cu următoarele simptome: albuminurie, porfirinurie, methemoglobinemie, hiperprotrombinemie, ce duc la tromboze acute.

5.14.1. Medicamente cu acțiune asemănătoare a vitaminelor K

Acetomenaftona (Acetomenaphtone, (B. P.), Acetomenaph, Acetomenadone, menadioldiacetat-1,4-diacetoxi-2-methylnaphtalene. $C_{15}H_{14}O_4$=258,3 (Pharmacopeea Ind., Iug., Arg., Aust., Belg., Braz., Fr., Germ., Mex. Swisz., Neth., Roum., SUA).

Se prezintă ca o pulbere cristalină albă cu gust amar, fără miros sau foarte slab de acid acetic, ușor solubilă în alcool.

Are acțiune și utilizări similare cu ale fitomenadionei, dar cu efecte mult mai slabe. Este administrată per os, sub formă de tablete, în: profilaxia hemoragiilor prenatale, în doze de 5—10 mg/zi, timp de 7 zile înainte de naștere; în boala hemoragică a nou-născutului: după 24 ore de la naștere se injectează 1 mg.

În perioada preoperatorie a icterului obstructiv se administrează 5—10 mg/zi, timp de 6 zile.

În scleroza multiplă și în distrofia musculară, în injecții i.m., 150 mg/zi în primele 7 zile, apoi la 3 zile, timp de 6 zile, a întîrziat foarte mult procesul și avansarea distrofiei.

Scanned with OKEN Scanner

Preparate cu *acetomenaftonă brevetate*: AMYSIN — tablete ce conţin 10 mg acetomenaftonă şi 50 mg nicotinamidă; utilizat în degerături, profilactic 2 tabl./zi, iar în terapeutică 1×3—4 ori/zi. La copii, se administrează $^1/_2$ din doza adulţilor. DELLIPSOIDS D_{27} (Pilworth), fiecare tabletă conţine 7 mg acetomenaftonă şi 25 mg acid nicotinic; utilizat în degerături, profilactic 1—2 tabl./zi, iar terapeutic 6—9 tabl./zi.

Asemănătoare sînt şi KAVITINE şi KAYVITE (Australia).

5.15. Vitaminoterapie veterinară

Vitamina K soluţie 1% fiole de 10 şi 50 ml se injectează i. m. sau s.c. în stările hemoragice sau preoperator, în distocii, în diateza hemoragică de origine hipoprotrombinemică, care însoţeşte enteritele şi hepatitele cronice, în ciroza hepatică, intoxicaţia cu salicilaţi şi cu nutreţuri bogate în cumarină (sulfină alterată), în amicrobismul intestinal, după administrări de sulfamide sau antibiotice enteroactive (sulfacoccidin, ftalilsulfatiazol, tetracicline), mai ales în tratamentul coccidiozei aviare, în apa de băut din sol. 1%, 0,5—1,5 mg/Kg pasăre/zi, timp de 3—5 zile. Dozele terapeutice sînt identice cu cele profilactice, 0,1—0,3 mg/Kgcorp, le animalele mari, 0,01—0,03 la animalele mici, injectate de 2 ori/zi (72).

5.16 Incompatibilităţi

Vitamina K este incompatibilă cu soluţiile injectabile de fenitoină sodică, clorhidrat de promazină, cu care formează precipitate; de asemenea, cu substanţele oxidante şi sărurile de argint (109).

Precauţii. Nu se administrează în flebite şi stări tromboflebitice.

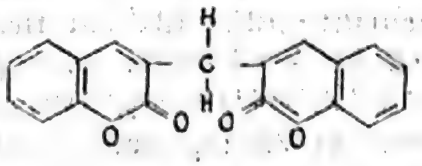
Se impune evitarea administrării în ultimul trimestru al sarcinii deoarece nou-născutul poate avea hiperbilirubinemie.

5.17. Antivitaminele K

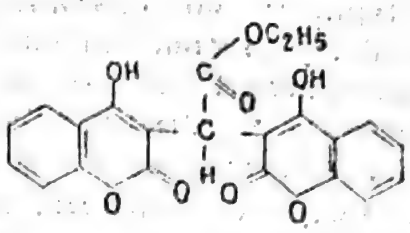
În anii 1921—1922, s-a semnalat în S.U.A. şi provinciile vecine din Canada o boală care apărea la vitele cornute şi care era caracterizată pin hemoragii foarte mari, uneori chiar mortale. Cercetările au constatat că aceasta este provocată de tulburarea procesului de coagulare; s-a emis ipoteza că s-ar datora unei substanţe toxice *melilotoxina*, care se găseşte în planta Melilotus alba din fînuri (mucegăite) (100). Experienţele pe iepuri hrăniţi cu furaj alterat au reprodus sindromul observat (72).

E. Olson, în 1929 (85), arată că sîngerarea era provocată de un produs de descompunere al cumarinei. Ulterior, acest principiu a fost izolat în stare pură şi înregistrat sub numele de bis-hidroxi-cumarină (**Dicumarol**). Această substanţă a fost sintetizată chimic, iar derivatul său, denumit **Pelentan**, are o mare utilizare în terapeutică.

Scanned with OKEN Scanner



DICUMAROL (3-3'- METILEN-BIS-4-HIDROXICUMARINA



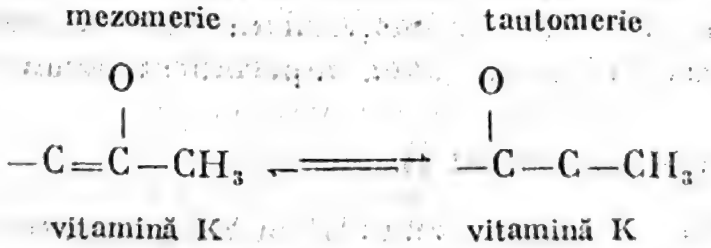
PELENTAN (ETIL-BIS-CUMACETAT)

Deoarece dicumarolul și pelentanul prezintă un plan simetric s-a emis ipoteza că efectul lor antivitaminic este datorat antagonismului prin analogie structurală. Această idee a fost utilă la început întrucît a dus la experimentarea a numeroase substanțe cu efect antivitaminic. N. Linck și col. au experimentat peste 150 substanțe, constatînd că 40 din ele au efect anticoagulant (98, 103).

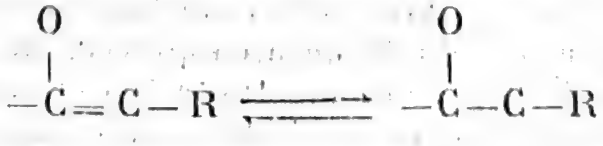
S-a observat că efectul antivitaminic este datorat înlocuirii radicalului CH_3 (de la poziția 2) cu un radical mai complex. După J. Fragner (20), radicalul metil din poziția 2 este esențial pentru activitatea vitaminei K și oferă cea mai mare posibilitate de ancorare a moleculei la suprafața enzimei.

Cercetările diverșilor autori au arătat că trecerea de la vitaminele K la antivitaminele K se face prin înlocuirea radicalului metil cu un radical mai complex, de ex. fenil sau alte hidrocarburi aromatice, hidroaromatice sau alifatice (55).

În toate cazurile trebuie păstrată analogia structurală și, în special, mezomeria și tautomeria :



vitamină K vitamină K



antivitamine K

Derivații cumarinici determină o hipoprotrombinemie și deci, mărirea timpului de coagulare. Acțiunea substanței nu este directă, ci prin intermediul reducerii de protrombină, produsă de ficat.

Mecanismul prin care compusul inhibă biosinteza de protrombină nu este complet clarificat, dar diverse probe indirecte lasă să se presupună

că derivații cumarinici împiedică participarea vitaminei K la sinteza hepatică a protrombinei. De altfel, efectul celor două substanțe este net opus, și anume : bis-hidroxicumarina produce o hipoprotrombinemie și accelerează răspunsul la acțiunea cumarinei (101, 102).

Tratamentul cu antivitamine K nu determină efecte imediate ; de obicei se administrează o primă doză de 200—300 mg substanță, iar efectul se manifestă după 24—66 ore. Dozele suplimentare zilnice, 50—200 mg, se dau numai dacă concentrația protrombinei depășește cu 20% valoarea normală. Se consideră că tratamentul și-a atins scopul dacă nivelul activității protrombinei se menține la valoarea de 15—20% față de normal. După întreruperea tratamentului, revenirea la normal are loc lent, în 2—7 zile sau chiar mai mult. Se recomandă să nu se facă tratamentul după scheme fixe, reacția pacienților la acest tratament fiind diferită.

Controlul terapeutic trebuie făcut permanent cu ajutorul probelor Quick, iar tratamentul trebuie întrerupt cînd activitatea protrombinică scade sub 15—20%. De asemenea, se recomandă ca, în cazul cînd activitatea scade sub acest nivel, să se administreze vitamina K.

Pacienții care au leziuni hepatice, copiii și nou-născuții sînt sensibili la acțiunea anticoagulantului. Nu a putut fi explicată pînă acum rezistența la produșii de antivitamină K a animalelor care alăptează.

Produșii cumarinici și, în special, antivitamina K au acțiuni diverse : scăderea capacității de aglutinare și a adezivității plachetelor sanguine, prelungirea timpului de coagulare, timpul de sîngerare fiind, de obicei, nemodificat, iar timpul de retracție, crescut.

Pentru interpretarea corectă a datelor de mai sus sînt necesare :

a. testul biochimic (timpul Quick), care confirmă avitaminoza K ;

b. testul clinic, care atrage atenția asupra avitaminozei. La nou-născuți se constată diferite sîngerări și se notează, de unii autori, hemoragie. Acestea sînt favorizate de traumatismul obstetrical pe teren carențat. Dacă nou-născutul prezintă icter, diagnosticul de hipoprotrombinemie este confirmat.

Administrarea vitaminei K_1 sau K_3 corectează scăderea protrombinei și proconvertinei.

În cazul folosirii terapeutice, trebuie să se cunoască faptul că absorbția anticoagulantelor, ce fac parte din antivitaminele K, este inconstantă ; de ex., din 250—500 mg administrate per os, nu se absoarbe decît 0,36%.

Metabolismul intermediar al antivitaminei K nu este precis cunoscut (72), dar se poate afirma că substanța este metabolizată lent, aproape complet.

În acest fel se explică ritmul lent de degradare a substanței și excreția renală neglijabilă. Viteza de formare a compusului variază de la individ la individ, nu depinde de vîrstă sau de preexistența leziunilor

hepatice ; zilnic se metabolizează 15—50% din doza terapeutică ; după întreruperea tratamentului, unii bolnavi prezintă concentrații apreciabile chiar după 9 zile, pe cînd la alții, concentrația devine neglijabilă timp de 2 zile.

Administrarea vitaminei K nu modifică viteza de dispariție a antivitaminelor. Între scăderea sub prag a nivelului plasmatic a medicamentului și restabilirea activității protrombinice se interpune un interval de timp (104). În urină nu s-a pus în evidență mai mult de 1% dicumarol, care poate străbate bariera placentară. Cînd mama a primit dicumarol, nou-născutul poate prezenta o gravă hipoprotrombinemie, însoțită uneori de hemoragii cerebrale. Cumarina este eliminată și prin laptele matern. Ca măsuri de prevedere, se recomandă administrarea vitaminei K.

Vitamina K intervine în mod regulat la biosinteza protrombinei, la nivelul ribozomului (105, 106) ; experiențele au arătat că :

produsele de vitamină K_1 stimulează apariția promptă a protrombinei perfuzatului de ficat izolat de șobolan, dacă aceasta este adăugată in vitro ;

protrombina care apare, derivă din aminoacizii liberi prezenți în ficat, în timpul adăugării de vitamină K_1 ;

capacitatea celulei hepatice de a sintetiza protrombina depinde de raportul vitamină K/cumarină al animalului.

Sistemul celular hepatic de șobolan, perfuzat și incubat timp de 20 de minute într-un mediu cu leucină — ^{14}C, este capabil să sintetizeze proteine; cînd însă animalele au fost tratate cu anticoagulantul warfarină, sinteza proteinei s-a efectuat într-o cantitate neglijabilă.

Aceste constatări au definitivat participarea vitaminei K la biosinteza protrombinei.

5.17.1. **Efectele toxice ale antivitaminelor.** La om, administrarea dicumarolului în doze terapeutice a putut fi utilizată timp de 3—4 ani, fără a avea loc accidente dar, în același timp, s-a constatat că, chiar în doze admise se pot produce efecte *toxice ;* greață, vărsături și diaree ; uneori s-au produs decese. Hemoragia însă este semnul principal al intoxicației, ce are loc numai atunci cînd dozele administrate au provocat o hipovitaminoză cu simptome clinice. De aceea este necesar continua supraveghere a bolnavului, făcîndu-i-se mereu controlul prin „timpul de coagulare", pentru a se putea lua măsuri la timp, în cazul cînd se descoperă tendința de intoxicație. Sîngerarea se poate produce oriunde, dar mai ales în mucoase, piele și alte organe.

În general, hemoragiile mari pot fi cam de 2%, iar cele mici sînt de cca 4%. S-au mai notat hemoragii cerebrale (107).

În general, tratamentul cu produse de antivitamină K trebuie să fie suprimat la primul semn de sîngerare (108, 109). Dacă protrombina

scade sub nivelul de 15%, trebuie să se administreze imediat doze mari dintr-un preparat de vitamină K judicios ales. Pentru combaterea rapidă a hemoragiei se indică transfuzia de sînge total sau numai de plasmă ; se indică ca transfuziile să se repete în cantităţi mici, pînă cînd tratamentul cu vitamină K începe să aibă efect, restabilind timpul de protrombină normal (100%).

În toate aceste cazuri se recomandă ca să se facă zilnic timpul de protrombină şi chiar să nu se folosească medicamentul dacă nu avem mijloacele de a-l urmări prin procedeele recomandate. De asemenea, se recomandă ca înaintea deciziei, medicul să facă o anamneză atentă, precum şi examenele de laborator indicate mai sus (110).

S-au studiat cîteva sute de compuşi din *grupul dicumarolului*, dar foarte puţini au intrat în practică. Printre aceştia notăm : compusul **Pelentan**, denumit şi *Trombarin CIF*, *Tromexan* sau *etil-biscumacetat*. Pelentanul este eterul etilic al acidului 3,3'-(4-oxicumarinil)-acetic. Fiind mai solubil, prezintă o resorbţie mai rapidă şi deci, o eliminare mai rapidă decît dicumarina, perioada de latenţă fiind relativ mai scurtă (12—24 ore). Tendinţa mică de acumulare şi eliminarea rapidă fac ca menţinerea protrombinei la nivelul dorit să fie dificilă. Acţiunea este de trei ori mai mică decît a dicumarinei ; de aceea, dozele sînt de 3 ori mai mari.

Medicamentul se prezintă în tablete a 300 mg, care se dau în 3—4 prize/zi ; se recomandă urmărirea timpului de protrombină.

Alte substanţe folosite în terapeutică sînt : *Ciclocumarolul* şi *Fenindiona*, care este prima substanţă la care nu se constată simetrie întrucît de la vitamina K se trece la antivitamină K, prin înlocuirea radicalului metil din poziţia 2, cu radical fenil. Acţiunea sa este foarte bună şi doza de întrebuinţare este de 50—150 mg.

Trombostop (acenocumarolsintrom), care conţine 2 mg acenocumarol/cpr. *Sinonime* : Sintrom (Geigy-Elveţia), Syncumar (RPU), Acenocumarolum (DCJ).

Preparatul interferă cu sinteza hepatică a protrombinei. Acţiunea fiziologică se instalează după o perioadă de latenţă de 24—48 ore şi se menţine cca. 48 ore.

Se mai cunosc şi alţi compuşi cu activitate *antivitamină K ; 2-fenilindationa* şi derivaţii cloruraţi ai menadionei (diftiocolul, 2-clor-1, 4-naftochinona etc.) (11).

Trebuie avut în vedere că, în asocierea *anticoagulanţilor* orali cu antibioticele (Kanamicina orală, peniciline, Neomicina, streptomicine orale), apare riscul creşterii puternice a efectului *hipocoagulant*, prin mecanisme conjugate : împiedicarea resorbţiei vitaminei K, scăderea producerii vitaminei K de flora intestinală, prin competiţia la legarea

Scanned with OKEN Scanner

proteinelor plasmatice, deoarece vitaminele K și anticoagulantele orale au o afinitate similară de legare la acestea, de aproximativ 80—90% (109).

Tratamentul cu antivitamină K a dus la următoarele concluzii (11) : a. antivitaminele K au largi indicații în domeniul patologiei cardiovasculare (tromboze) ; b. același tratament are valoare preventivă la bolnavii cu aritmie completă în sindromul postoperator și la purtătorii de proteză valvulară ; c. studiind atent starea biologică a pacientului, nu se găsesc contraindicații riguroase la folosirea antivitaminelor K la bolnavii în vîrstă.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. DAM H., Biochem. Z., 215, 475 (1929). 2. GOULIAN M., Ann. Int. Med., 65, 782 (966). 3. MCFARLANE R.G., Nature, London, 202, 498 (1964). 4. DAM H., Biochem. Z., 220, 158 (1930). 5. MCFARLANE W.D., GRAHAM W.R., HALL G.E., J. Nutrit., 4, 331 (1931). 6. RICHARDSON F., Biochem. J., 25, 358 (1931). 7. SCHÖNHEYDER F., Nature, 135, 653 (1933). 8. SCHÖNHEYDER F., Biochem. J., 30. 890 (1936). 9. DAM H., SCHÖNHEYDER F., Nature, 135, 653 (1935). 10. QUICK A.T., Am. T. Physiol. 118, 260 (1937). 11. GRAVES J.O., SCHIMID C.I.A., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 27, 43 (1937). 12. SMITH A.P., WARNER E.D., BRINKHONS E.D., LEAGERS E.W., J. Exp. Med. 67. 911 (1938). 13. WARNER E.D., BRINKHONS K.M., SOHITH H.P., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 37, 628 (1938). 14. ALMQUIST H Y , STOCKSTAD M., Nature, 136, 31, (1935). 15. DAM H., GRIEGER A., KARERR P., Helv. Chim. Acta., 22, 210 (1939). 16. MC CORQUODALE W.D., BINKLEY E., MCKEE W.R., TRAYER R.S., DOISY H., J., Biol. Chem. 130, 219 (1939). 17. MCKEE R.W., BINKLEY F., MCCORQUODAIE, TRAYER S.A., DOISY A.E., J. Am. Chem. Soc. 61, 1 295 (1939). 18. ALMQUIST H.Y., KLOSE A., J. Amer. Chem. Soc. 61, 2 557 (1939). 19. BERHEIM E., J. Biol. Chem. 134, 457 (1940). 20. FRANGER J., Vitamine, Ed. Gustov Fischer, Jena (1965). 21. BERNFELD P., Biogensis of Natural Compounds, Pergamon Press (1967). 22. ALMQUIST H.J., J. Biol. Chem. 114, 241 (1936) ; 589, 115 (1936). 23. KLOSE A.A., J. Amer. Chem. Soc. 1 611, 61 (1939). 24. ANDREW K.J.M., J. Chem. Soc., 180 (1961). 25. FIESER L.F., WOODFORD S., J. Biol. Chem., 137, 659 (1960). 26. KEMPTER G., Struktur und Synthese von Vitaminen Akademie-Verlag, Berlin (1964). 27. DAM H., GEIGER A., GLAVIND I., KARRER P., ROTSCHILD E.E., SOLOMON H., Helv. Chim. Acta, 22, 310 (1939). 28. BINKLEIY S.B., MCCORQUODALE D.W., THAYER E.A., J. Biol. Chem. 130, 219 (1939). 29. KARRER P., SIMON H., ZBINDEN E., Helv. Chim. Acta, 27, 313 (1942). 30. KARRER P., GEIGER A., LEGLER R., RUEGGER A., SOLOMON H., Helv. Chim. Acta. 22, 1 464, (1039). 31. MCKEE R.W., BINKLEY S.B., MCCORQUODALE D.W., THAYER S.A., DOISY E.A., J. Am. Chem. 61, 1 295 (1939). 32. WAGNER G., KUHMSTEDT H., Pharmazentische chemie. Akademie-Verlag, Berlin (1965). 33. JAVILIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., Traité de Biochimie génèrale, T. II, F.I., Ed. Masson, Paris (1962). 34. ROMER F., RITZ N.D., Arch. Int. Med., 117, 17 (1966). 35. TISCHLER P., SAMSON E., A.P., 2 786 770 (1957). 36. ISLER O., Helv. Chim. Acta, 41, 290 (1953). 37. FIESER L.F., J. Am. Chem, Soc. 61, 2 561 (1939). 38. SHUNK C.H., ERICKSON R.E., WONG E.L., FOLKORS K., J. Am. Chem. Soc. 81, 7 000 (1959). 39. DAVIE W.W., RATNOFF O.D., Science, 145, 1 310 (1964). 40. HAUPTMAN S., Uber den Ablauforganisch-chemischer Acad. Verlag, Berlin (1963). 41. ERICKSON R.E., SHUNNK C.H., TRENER N.R., ARISON B.H., FOLKERS K., J. Am. Chem. Soc. 81, 4 999 (1959). 42. VOGEL H., KNOBLOCH H., Chemie und Technik der Vitamine, Stuttgart (1962). 43. NOLL H., RUCGG R., GLOOR H., RYSER G., ISLER O., Helv. Chim. Acta, 43, 433 (1950). 44. NOLL H., J. Biol.

Scanned with OKEN Scanner

Chem. 232, 919 (1958). **45.** VESLEYAND V., KAPP J., Rec. Trav. Chim. 44, 360 (1945). **46.** SCEGERS W.H., Fed. Proc. 23, 749 (1964). **47.** AUSTACHER S., FERNHOLZ E., J. Am. Chem. Soc. 61, 1 924 (1939). **48.** Farmacopeea română. Ed. IX, Med. (Buc.) (1975), **49.** BILLETER M., MARTIUS C., Biochem. Z., 334, 304 (1961). **50.** MARTIUS C., Biochem. Z., 327, 407 (1956). **51.** BILLERTE M., MARTIN C., Biochem. Z., 333, 430 (1960). **52.** HOWEL. W.H., DONAHUE D.D., J. Exp. Med. 65, 177 (1937). **53.** MARTIUS C., ESSER H.O., Biochem. Z., 331, 1, (1958). **54.** ŞUŢEANU St., Diagnosticul şi tratamentul bolilor interne. Ed. Med. (Buc.) (1982). **55.** ENESCU L., Biochimie. Vitamine liposolubile LIT. IMF, Iaşi (1975). **56.** COULSON E.A., J. Soc. Chem. Ind., 60, 123 (1941). **57.** KARRER P., Helv. Chem. Acta. 22, 1 146 (1939). **58.** LIN L., ELLIOTW H., J. Am. Chem. Soc., 74, 4 089 (1962. **59.** ONETO J.F., SAH P.P.T. Pharmac. Acta.Helv. 24, 108 (1969). **60.** MURRAY A., RONZIO A.R., J. Am. Chem. Soc. 74, 2 408 (1962). **61.** ISLER O., Angew. Chem. 71, 7 (1969). **62.** ISLER O., DOEBEL K., Helv. Chim. Acta. 37. 225 (1964). **63.** LAKY K., GLEDNER J.A., Physiol. Rev. 44, 127 (1964). **64.** DIDISCHEIM P., Arh. Int. Med. 110 170, (1968). **65.** STOFFEL W., MARIUS S., Angew Chem. 72, 627 (1960) ; **66.** WAGNER F.A., Vitamins and Coenzymes. Ed J. Wiley, London (1984). **67.** ISLER O., RUEGG R., CHOPARD-JEAN L.H., Chimia, 12, 69 (1960). **68.** OERIU S., Biochimie medicală Ed. Did. ed. (Buc.), (1974). **69.** DUNCAN G.G., Bolile metabolismului. Ed. Med. (Buc.), (1966). **70.** ENESCU L., BAZGAN L., Biochimie medicală. Biocatalizatori. LIT IMF, Iaşi (1978) **71.** ENESCU L., Biochimie medicală vol. I, IMF Iaşi, (1978) **72.** ENESCU L., Farmacologie şi receptură veterinară. Ed. Did. Ped., (Buc.), (1967) **73.** BEDELEAN D., MANTA I., Biochimie medicală. Ed. Dacia (1985). **74.** SORU E., Biochimie medicală, vol. I, Ed. Med. (Buc.), (1959). **75.** WESTRALTE M., Am. J. Med., 38, 899 (1965). **76.** TEODORESCU T.E., Patologie biologică. Ed. Med. (Buc.), 1974). **77.** GDRAN S., PER OLVO GANROT, J. Biol. Chem. 247, 24 (1972). **78.** KLOSE A.A., J. Amer. Chem. Soc. 61, 1939 (1968). **79.** ALMQUIST H.J., J. Biol. Chem. 21, 118 (1946). **80.** ANSBACHER S., FERNHOLZ E., J. Biol. Chem. 131, 406 (1939). **81.** AMSBACHER S., FERNHOLZ E., J. Amer. Chem. Soc. ,61, 1924 (1939). **82.** FIESER L.F., CAMPHELL W.P., FRY E.M., GATES M.D., jr., J. Amer. Chem. Soc. ,2 559 (1939).**83.** FIESER L.F., TISHLER M., WENDLER N.L., J. Amer. Soc. 62. 2 861 (1940). **84.** KARRER P., EPRECHT A. LEGLER R., RUEGYER A., SOLOMON H., Helv. Chim. Acta, 22, 1 464 (1939). **85.** OLSON R.E., Science, 145, 926 (1984). **86.** HOFFMAN S.W., The biochemistry of chimical Medicine Yaer Book Medical Publies hers — Chicago (1970). **87.** GLANDER R., LANDEBEK I., Kinder heilk, 75, 392 (1958). **88.** GARDIN R., LAMBERG B., Acta Endocrinol. 19, 77 (1985). **89.** JACOBSEN B.K., DAM H., Biochem. Biophys. Acta, 40, 211 (1980). **90.** GOMEZ P.L., RAZSULPURI L.M., MICHALEK G.J., Food. Technic. 16, 109—111 (1962). **91.** GAMBLE J.R., DENNIS W.E., COON W.W., HIDGSON P., Arch. Int. Med. ,98, 52 (1985). **92.** MANDEL K. Wiener Med. Wschr. 100, 106 (1960). **93.** JAVILLIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., BOULANGER P., ROCHE J., WURMSER R., Traité de Biochimie Générale. Ed. Masson, T. II, Paris (1976). **94.** RAOUL Y., RAGHEB-HANNA C.R., Soc. Biol. 144 (1950). **95.** RODAHL K., Norsk. Polorinstituts Skrifter, 95. (1950). **96.** WALKER S.E., EYLENBYURG E., MOORE R., Biochem. J. 41 (1987). **97.** LIGHT T.J., ALSCHER R.P., Frey. Sci. 100, 225 (1967). **98.** TOMASZEWSKI W., ENGEL C., Z. f. Vitaminforsch., 9, 238 (1969). **99.** SUTTIE J.W., Arch. Biochem. Biophys. 141, 571—578 (1976). **100.** MATSCHINER J T., DOISY E.A., Proc. Soc. Esp. Biol. Med. 109, 139 (1962). **101.** MALMOTRA O.P., CARTER J.R., J. Brit Chem. 246, 2 665 (1981). **102.** GANROI P.O., NILEMAN J.:E., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 28, 145 (1971). **103.** STENFLO J., J. Biol. Chem. 247, 8 168—8 176 (1972). **104.** HORTH E.C., MCHALE D., JEFERIES L.R., PRICE S.A., DIPLOCK A.T., GREEN J., Biochem. J. 100, 424 (1986). **105.** PALADE G.E., The Scientific Endeavos Institut Rokefeller Press (1974). **106.** ROBERT E., OLSON I., Acta Vitaminologica et enzimologica, 34 (1979). **107.** GONJA L.M., BRIDGES R.A., Biochem. Fram. 14, 579 (1979). **108.** ENESCU L., Biochimie medicală, vol. II, Lit. IMF Iaşi (1978). **109.** STĂNESCU V., SAVOPOL V., Incompatibilităţi medicamentoase. Ed. Med. (Buc.), (1981). **110.** FRICK et al., J. Appl. Physiol., 23, 307 (1979). **111.** HARPER H.A., RODWELL V.W., MAYES P.A., Review of Physiological Chemistriy. Ed. Lange Med. Publ., Drawer L., Los Altos. California ,USA (1988).

Scanned with OKEN Scanner

INDUCȚIA ENZIMATICĂ ȘI VITAMINELE LIPOSOLUBILE

Conney A. H. și Burns J. J. au arătat că, dacă substanțele exogene (medicamente, poluanți etc.) sînt metabolizate, pot apare interacțiuni între ele, fapt ce se explică prin capacitatea enzimelor microzomale de a metaboliza substanțele cu diferite structuri și activitate, ca și posibilitatea ca aceste enzime să fie stimulate sau inhibate de alte substanțe administrate concomitent.

Unele substanțe medicamentoase ca fenobarbitalul, hidrocarburi policiclice, cloroformul, eterul, dimetilsulfoxidul (folosit ca vehicul pentru medicamentele insolubile etc.), adăugate într-un mediu ce conține omogenat de ficat, nu provoacă o creștere a activității enzimelor microzomiale, în schimb, dacă sînt administrate in vivo (la animale și om), după cîteva zile apare o creștere a activității acestor enzime.

Substanțele care stimulează, care induc activitatea enzimatică, depășesc astăzi numărul de 200 ; inducția reprezintă o sinteză „de novo" a enzimelor microzomiale. Stimularea acestor enzime prin inducere este întovărășită de o creștere a greutății ficatului, proliferarea reticulului endoplasmatic neted, mărirea conținutului de fosfolipide, de citocrom microzomial, al enzimelor de detoxifiere, ; de asemenea, apare o activitate directă a permeabilității microzomiale.

Inducția, după Orremus S., reprezintă o adaptare biochimică temporară, care permite organismului să supraviețuiască la acțiunea unor compuși chimici exogeni, ca insecticide, medicamente și alte substanțe cu caracter liofilic.

Administrarea unui inductor dă posibilitatea organismului să mărească viteza de metabolizare a unui număr mare de medicamente, concomitent cu mărirea activității NADPH-citocrom c-reductazei, citocromului C, a sintezei hemului și fosfolipidelor.

Alvarez și col. au arătat că, în primele 12 ore după administrare, fenobarbitalul crește rapid activitatea N-dimetilazei și conținutul în citocrom P_{450}, numai în reticulul endoplasmatic rugos ; tot după același interval de timp, 3-metilcolantrenul produce efectul nu numai în reticulul endoplasmatic rugos, ci și în cel neted.

Scanned with OKEN Scanner

Reticulul endoplasmatic prezintă 2 forme : o formă reticulară, rugoasă, legată de ribozomi, ce prezintă o activitate enzimatică minoră, și o formă tubulară, netedă, fără ribozomi, ce are o activitate enzimatică maximă, care se datorează capacității mai mari de reducere a citocromului P_{450}, sub acțiunea NADHPH-reductazei-citocrom P_{450} . Pe complexul redus (cit+ P_{450} Fe^{2+}—R) se fixează oxigenul molecular, formîndu-se un complex ternar (O_2—cit. P_{450} Fe^{2+}—R), care poate reintra în reacție.

Administrarea cronică a unui medicament sau toxic crește nivelul enzimelor implicate în metabolizarea proprie, datorită fenomenului de inducție enzimatică iar, datorită nespecificității marcate, administrarea unui medicament induce o metabolizare mai rapidă a unei alte substanțe sau a unei serii de medicamente.

Utilizarea mai multor medicamente concomitent determină o interacțiune a metabolizării lor care, datorită fenomenelor de inducție enzimatică, influențează mult, atît eficacitatea tratamentului, cît și posibilitățile de apariție a unor accidente.

Astfel, prin administrarea fenobarbitalului, care se găsește inclus în compoziția mai multor medicamente, se va reduce efectul anticoagulant al substanțelor cumarinice.

Datorită inducției enzimatice, substanțele medicamentoase și, deci și vitaminele, sînt mai rapid metabolizate și, dacă ele acționează ca atare, nu prin metaboliți, atunci trebuie să se mărească doza la nivel optim eficace, iar dacă acționează prin metaboliți, atunci trebuie să se repete doza la intervale de timp mai mici.

Considerăm că utilizarea de medicamente inductive poate determina posibilitatea măririi metabolizării unor compuși endogeni, creîndu-se, astfel, o nouă cale terapeutică : de ex., hiperbilirubinemia nounăscuților sau icterul neonatal, care apare datorită unui nivel scăzut de glucuronil-transferază, poate fi corectat prin administrarea de fenobarbital, înlăturîndu-se, astfel, necesitatea și riscurile exsanguinotransfuziei.

Prin inducție enzimatică se poate micșora eficacitatea glucocorticoizilor, fapt de care trebuie ținut seama la administrarea acestora.

Inducția enzimatică se poate instala în timp și poate fi de durată ; așa se explică, de ex., rezistența pe care o capătă insectele la insecticide (Aldrin., DDT, lindan etc.) sau la microorganisme, producerea de penicilinază ca și a altor enzime ce degradează antibioticele, imprimîndu-li-se rezistență la tratamentul cu unele antibiotice sau sulfamide.

Instalarea inducției variază în funcție de inductor, de organismul respectiv, cît și de doză. Activitatea enzimatică ajunge la o intensitate maximă în cîteva zile de la administrarea medicamentelor inductoare.

Scanned with OKEN Scanner

Observațiile au arătat că, de cele mai multe ori, inducția enzimatică apare la doze superioare dozelor terapeutice ; 7 —100 mg/Kgcorp pentru fenobarbital, 150—200 mg/Kgcorp pentru meprobamat, 125 mg/Kgcorp pentru cofeină, 15 mg/kg corp pentru clorpromazină.

Inducția enzimatică poate avea loc după administrarea dozelor subterapeutice, terapeutice, sau la doze din ce în ce mai mari, care pot ajunge pînă la apariția fenomenelor toxice.

Procesul inducției enzimatice are loc nu numai în ficat, ci și în plămîni, rinichi, intestin, piele etc. astfel, UDP-glucuronil-transferaza, implicată în inducția enzimelor, se găsește în piele și intestin ; iar nitroreductaza, în rinichi și plămîni.

Hidrocarburile policiclice stimulează enzimele de metabolizare a medicamentelor din piele, rinichi și stomac; experimentările pe animale au arătat că 3, 4,-benzpirenul, administrat pe piele, crește activitatea UDP-glucuronil-transferazei din piele, iar 9, 10-dimetil-1, 2-benzentracenul, administrat per os, provoacă o autoinducție enzimatică, stimulînd propriul metabolism din ficat, stomac și rinichi.

Cînd medicamentul sau insecticidul, care provoacă inducție enzimatică, nu mai vine în contact cu organismul, atunci, în mod lent, sinteza proteinei enzimatice nu mai are loc și deci, revine la nivel inițial, nefăcîndu-se o mobilizare rapidă.

Dintre medicamentele care produc inducție enzimatică enumerăm :

— hipnotice și sedative : metan, cloralhidrat, barbituricile, etanolul, glutemida, paraldehida, clorbutanol ;

— narcotice : eter pro narcozi, cloroform, protoxid de azot, hidroxidonă ;

— analgezice : morfină, amidopirină, meperidină ;

— anticonvulsive : parametadionă, mefenitoidonă ;

— antiinflamatoare : oxifenilbutazonă ;

— antihistaminice : clorciclizina, difenilhiaramida ;

— hormoni : cortizon, testosteron ; ACTH, estradiol, progesteron;

— miorelaxante : mefenazină, oxazolamină, oxfenadrina ;

— hipoglicemiante : tolbutamidă, carbutamidă ;

— tranchilizante ; neuroleptice : meprobamat, clorpromazină, hidroxizină, promazină etc. ;

— excitante ale sistemului nervos central: pentetrazol, nicetamină, imipramină, amfetamine ;

— antimicrobiene : sulfanilamide, cloramfenicol ;

— antireumatice : fenilbutazonă.

Barbituricele, în general, au acțiune stimulatorie de lungă durată a enzimelor ce accelerează metabolismul lor (autoinducție), dar și a altor medicamente, între care sînt cuprinse și vitaminele liposolubile ; bar-

Scanned with OKEN Scanner

bituricile stimulează N-demetilarea monometil-4-aminoantipirinei, hidroxilarea fenilhidrazinei și a zoxazolaminei.

La 24 ore de la administrarea barbituricelor, în microzomii hepatici crește de peste 3 ori nivelul citocromului P_{450}, ce conduc la oxidarea substratelor exogene și la creșterea de 2 ori a flavoproteidei legate de NADPH. De asemenea, crește concomitent în volum reticulul endoplasmatic neted, proteinele microzomale, ARNm, cu intensificarea încorporării aminoacizilor în proteinele microzomale.

Datorită efectului inductor, care determină o creștere a acestor elemente, apar la nivelul hepatocitului o serie de manifestări : creșterea concentrației proteinelor microzomale și a mărimii și greutății ficatului, care nu este o stare patologică datorată toxicității, ci un fenomen de adaptare la o suprasolicitare funcțională.

Acțiunea inductoare este, în general, nespecifică : inductorul stimulează activitatea unor substanțe diferite, exogene și endogene. *Mecanismul inducției enzimatice* are mai multe etape : la început, medicamentul, deci și *vitaminele liposolubile*, ca și substanțele poluante, se atașează de microzomi ; se accelerează sinteza fosfolipidelor, formîndu-se noi membrane ale reticulului endoplasmatic ; sinteza enzimatică apare în reticulul endoplasmatic în forma reticulară rugoasă, legată de ribozomi, iar cînd aceasta începe să crească, membranele pierd ribozomi, devenind tubulare, netede, avînd o activitate enzimatică maximă ; în același timp, crește sinteza sistemului transportor de electroni (citocromi P_{450} și NADPH-cit. P_{450}-reductaza), dacă substanța reductoare nu mai este administrată, și după un timp, activitatea enzimatică și cantitățile de proteine revin în mod treptat la valorile de la început.

Medicamentele inductoare și, în general, toate substanțele inductoare pot stimula :

— sinteza ARNm, după ce au reacționat cu ADN ;

— transportul ARNm, după ce au acționat asupra reticulului endoplasmatic ;

— inducția enzimei sau pot împiedica o eventuală inhibiție feed-back a sintezei ei, datorită enzimei microzomale, care acționează cu substanțele inductoare.

Determinarea inducției enzimatice, după administrarea de medicamente, se face printr-o serie de metode enzimatice, chimice, farmacodinamice și histologice.

După ce s-a administrat medicamentul sau asocierea de medicamente, se determină activitatea enzimelor potențiale. *Metodele chimice* urmăresc determinarea concentrației unor medicamente sau metaboliții, care apar în sînge sau urină la diferite intervale de timp, după administrarea substanțelor inductoare, care micșorează cantitatea de medicamente din sînge, mărind eliminarea unor metaboliți. De exemplu, secreția urinară

Scanned with OKEN Scanner

a acidului D-glucuronic se datorează inductorilor (fenobarbital etc.), care stimulează metabolizarea glucozei și glactozei pe calea acidului glucuronic.

Enzimele induse sînt : UDI-glucozo-dehidrogenaza (1), D-glucurono-δ-lactohidrolaza (2), glucurono-lactondehidrogenaza (3) : UDP-glucoză →acid UDP-glucuronic→acid D-glucuronic →D-glucurono-lactonă→acid L-gulonic.

Metodele farmacodinamice urmăresc durata de acțiune a unui medicament : de ex., la hexobarbital se urmărește durata somnului, întrucît durata lui de acțiune depinde de conținutul de enzime microzomal hepatice : substanțele inductoare scad, în general, efectele lor farmacodinamice.

Metodele histologice, folosind microscopia electronică, observă hipertrofia reticulului endoplasmatic neted. *Vitaminele liposolubile* sînt agrenate în inducția enzimatică.

Vitaminele A. Administrarea de spirolactonă, aldactonă, DDT etc. determină apariția unei inducții enzimatice, care accelerează metabolismul vitaminei A, și deci, scăderea din sînge a nivelului acesteia. În asemenea condiții se recomandă administrarea de vitamine A în doze mare.

Vitamina D. După folosirea îndelungată de medicamente (parametadionă, trimetadionă, difenilhidantoină dar și de fenobarbital) apare o inducție enzimatică care determină o scădere a concentrației de Ca și o creștere a fosfatazei alcaline, cu apariția concomitentă a bolii (osteomalacie). Inducția enzimatică, determină accelerarea metabolizării și deci, o scădere a acțiunii vitaminei D.

Dacă în această situație bolnavilor li se administrează vitamina D, atunci nivelele fosfatazei alcaline și ale Ca^2 revin la normal, înlăturîndu-se apariția stărilor patologice, ce se manifestă în hipovitaminoza D.

Vitamina K. Administrarea medicamentelor anticonvulsivante, la mame cu epilepsie, provoacă apariția inducției enzimatice, care a influențat metabolismul vitaminelor K, apărînd la nou-născuții acestora unele defecte de coagulare, care au putut fi corectate prin administrare de vitamină K.

Scanned with OKEN Scanner

BASES OF VITAMINOTHERAPHY

(Summary)

The scientific data are synthetically presented in a monograph tackling the complex problems of the liposoluble vitamins (A, D, E, F, K), both from vegetal and animal Kingdom as provitamins and vitamins in chemical synthesis, that rea presentig their biochemical, physiopathological aspects when these vitamins are in deficiency in the organism up to their pharmacodynamical function with a medicinal rôle and therapeutical effects ; some new results are mentioned regarding the molecular mechanism of action, at the cell level, in the intermediary molecular mechanism as well as the vitaminic interactions, the vitamin-enzim interactions and/or with certain drogs, both in physiologic and physiopathologic state ; the physiological effects, useful to the human and veterinary medicine, to the pharmacologists, biologists, biochemists as well as to everybody who uses the vitamins or are assuring some products and alimentary regimens.

The A vitamins are presented in a descriptive manner during twenty chapters : the first, the 2^{nd} and 3^{nd} chapter comprise the history, the nomenclature of the A vitamins, the biogenesis of the provitaminic carotens with the description of the sources of carotens from vegetals and from bird and animal tissues. In the chapter 4 the physico-chemical properties of thecaroten are shown with the structural characteristics of each caroten. In the chapter 5 the authors show the caroten dosing in the vegetal food and in blood after being extrcted by means solvents. The chapter 6 comprises the absorption and conversion of carotens both in animal and human beings, showing, biochemically, that the pancreatic lipase and the gall increase their resolution capacity while the paraffin oil reduces it. One also metions the human average carotenemy in different physiological conditions (pregnancy, nursing etc.) as well as the values of the plasmatic fractions affinity compared to the carotens in terms of the involved animal species. One olse describes the conditions to be met in order that a carotenoid might be transformed in the A vitamin and carotens. The chapter 7 relates the activity of the A vitamin expressed in international units (I.U.) wich correspond to the pharmacopoeia of the United States and to the European pharmacopoeia of the A vitamins and of their esters. In the chapters 8 and 9 the retinol (A_1 vitamin) and the dehydroretinol (A_2 vitamin) are described with the

Scanned with OKEN Scanner

stereochemical aspects and with the biological activity of the izomers. A subchapter presents the vitamin synthesis indicating the main technological proceedings. The chapter 10 comprises the physico-chemical properties of the A vitamins and of some vitaminic esters and in the chapter 11 one finds described and estimated (by means of 7 tables) the sources and the content of the A vitamins in food both of man and animals, their quantitative existence into the intestinal wall as well as their bioutilization in various pathological states. The chapter 12 comprises the mechanisms of the pharmacodynamical biochemistry where the intervention of the A vitamins upon the activity of certain enzimes involved in the intermediary metabolism is described, as follows: the A vitamin, the esterase, the colesterol-esterase and the L-gulono-lactono-oxidaze that are operating in the process of glucose transformation into ascorbic acid at the same time the intervention of the A vitamin upon ATP-sulphurilase and sulphotransferase in the processes of byosynthesis of mucopoly-saccharides, as well as in the activity of steroid-11-β-hydroxilase in the syntheses of steroid hormons.

In chapter 13 are presentend the alimentary and pathological causes as well as the biochemical preesses of the intermediary metabolism that induce the apparition of general und peculiar clinical signs characterizing the symptomatology of the hypo- and hypervitaminosis states in human and animal organisms. The biochemical correlation existing between the A vitamin and the vitamin deficiency manifestations at the ocular, epithelial, glandular, renal, hepatic, ovarian, testicular, hormonal (accompanied by gamatogenesis disorder), levels, is also dealt with.

In one of the tables are summarized the frequent manifestations appearing in the vitaminic deficiency, related to the age and physiological conditions. The chapter 14 analyses the interrelations of the A vitamins with some drugs and their correlations with the vitamins C, D, E, B_{12}, showing their influence upon the cortisone upon the methabolism of calcium, of alcohol, as well as the action of 6-di-benzanthracene, methylcolantren, caolin, benzpyren etc., upon the A vitamin in the uman and animal tissues and organs. A series of experimental conclusions, pointing out the favorable effects obtained when associating the A and E vitamins are described in ateromatosis, with a considerable diminution of fat plaquettes, of total lipides and of the aorta cholesterol. In chapter 15 the necessary of A vitamin quantity into the human organism in shown during the physiological evolution (child-old-aged people) pregnant women etc.). The methods of separations, indificaion and dosage of provitamins and A vitamins are forming the chapter 16 where the spectroscopic, physico-chemical and biological methods are described compulsory to be applied in quantitative estimations of the A vitamins in the food, in blood, in organs and drugs. In the same time a series of biological and therapeutical tests are described, together with the hematological and biochemical explorations necessary to investigate the vitamins A in humans and animals both in physiological and physio-pathological conditions.

The A antivitamins are presented in the chapter 17. The chapter 18 comprises the description of pharmaceutical preparations with the A vitamins either isolated or associated, together with the therapeutical prophylactic and curative indications, for affections like: the ocular ones (xerophtalmy, hemeralopy, keratytes, keratomalacies etc.)

Scanned with OKEN Scanner

those belongingto the ORL domain (chronic rhynopharingytes, atrophic rhynites, a.s.o.) : dermatological ones (skin- deep burns, cezemas, eritropoetic protoporphiry, leucoplasies, ichthyosis, the polymorphous acnea, psoriasis, etc.), as well as in some surgical, gynaecological, cardiovascular, liver affections. The necessary doses are indicated for children and grown-ups for each pharmaceutical preparation containing the A vitamins together with their synthetic isomers (Etretinat, Roacutan etc.).

The veterinary vitamins therapy formes the chapter 19 where the indications of the utilization of A vitamins pharmaceutical preparation mentioned and their isomers in the hypovitaminosis of various animal species — as regard their age, weight, size. The chapter 20 encloses the description of the carotenoid effects and of the A vitamins in various stages of experimental malgnancy with positive results, a new biochemical exploration is presented showing that, due to their chemical structure, they re-balance the redox potential by inhibiting the increased activity of the thyrosinase that metabolizes the thyroisine up to excedentary melanines that transform the normal cells into melanoms : the authors demonstrate that retionoids should be included in the therapy of malignant melanome, besides the hydroquinone and the C, E and K vitamins.

Ih the chapter 21 the possibilities of using natural and synthetic carotinoids in food-industry (meat, cheese, sweets etc) are described.

The chapter tackles the incompatibilities of retinoids with oxidating substances, rancid oils, acacia gum etc.

The D vitamins

The first chapter comprises the history of vitamins D, starting from the firts observations, made on underfed children living in west European towns (1650), up to the modern vitaminic syntheses and the recent results of the pharmaceutical biochemistry.

The D protovitamins are forming the chapter 2 where one presentsbyo synthetic genesis, the quantitative values in food (fruit, vegetables, meat etc.) the methods of isolation with the description of the chemical, biochemical and pharmacodynamic characteristics of each provitamin.

In the chapter 3 are shown the chemical composition of the D_1—D_7 vitamins and their existence in plants and animals.

In the chapter 4—8 are encluded the physico-chemical characteristics of D_2—D_7 vitamins with their methods of synthesis and extraction out of the biochemical sources. The chapters 9 and 10 present the correlation existing between the structure and their physiological activity of the vitamins as well as the dosing methods (biological, chemical, physical ones).

The sources of the D vitamins both for man and animal are treated in the chapter 11 where their existence in food products is mentioned of the quantitative point of view the daily necessary quantity and the resorption quantity of vitamins are indicated beginning from the early ages-as suckling children up to the old-aged people in normal physiological states (pregnancy nursing etc) and in different seasons.

A series of experimental observations are mentioned that reproduce the vitaminic circulatory stages and their rôle in the organism ; a discription of the biological and

Scanned with OKEN Scanner

radiological modifications is described accompanied by clinical observations as regards the hypovitaminosis, with the prophy laxis and therapy of rachitis ; the osteomalacy iwth its radiological and biochemical modifications is described as well as the hypervitaminosis state with the methods of investigation and the respective therapy. A special subchapter the interrelations of vitamins D with the other vitamins and hormones are presented.

The antivitamins are discussed in the chapter 12.

In the chapter 13 the pharmaceutic drugs are described with their existent synonyms and their therapeutical indications for the humans in various physio-pathological states showing the precautions to be taken into account when administrating the vitamins

The veterinary vitaminotherapy forms a subchapter where the vitaminic preparations and their administrations doses are indicated in terms of the disiases and the animal and bird species.

The E vitamins

The history of these vitamins is described in chapter 1, beginning from 1922 when the existence of the antisterility vitamin has been mentioned, up to 1960, when IUPAC (The International Union for Pure and Applied Chemistry) has estabilished their denominations as E vitamins with „tocopherols".

In the chapter 2 the correlation existing between the chemical structure and the biological activity of tocoferols is mentioned. The description of the synthesis, biosynthesis and preparation from vegetal sources of the α-tocopherol with their physicochemical properties, is to be found in the chapter 3, and the other tocopherols constitute the subject of the chapters 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 that comprise the physico-chemical characteristics and the biological activity of each tocopherol.

In the chapter 11 the physico-chemical and biological methods of dosing the tocopherols (tests) are presented. Their spreading in nature and the quantitative existence of tocopherols in food is inserted in 3 tables that are commented in the chapter 12. The existence of the tocopherols in different organs and tissuis of the human and animal organism in various stages of biological evolution are described in the chapter 13, where the authors are showing besides the physiological action, their antioxidative effect, in terms of the chemical structure of the tocopherols ; the describe : the biochemical rôle in the intermediary metabolism, in the enzymatic activty in the breathing system (breathing chain) in the proteic, lipidic, nucleic acids, methabolism, etc. The states of deficiency of E vitamin are described alongside of the symptomatplogy of the hypovitaminosis that is characteristic for a certain species, age, and the sex of animals and humans ; thus, the muscle distrophy with its clinical and biochemical aspects, the lesions of the nervous and bony system, the genital and hematopoetic embryonar, endrocrine, cardiovascular, renal lesions are presented together with their biochemical aspects that are characterising them.

In two subchapters the hypervitaminosis state is described with its symptomatologiy and their characteristic biochemical costants, as well as the correlation of the E vitamin with other vitamins (A, B_1, B_6, C) mentioning the pharmacodynamical effects.

Scanned with OKEN Scanner

The interaction of the E vitamin with some drugs (nitrogliycerine, antabuz, blau methylene etc.) are constituting the chapter 14.

The daily necessary dosis of tocopherols analysed in the described tests (i. e dietetic, clinical, biochemical ones) indicating the factors that increase the necessary level or that influence negative the E vitamin therapeutics are given in the chapter 15. The activity units are given in chapter 16 while in chapter 17 the antivitamins inducing the tocopherol deficiency are described. The chapter 18 compreses the vitaminotherapy in the first subchapter of which the pharmaceutical preparations included in the Romanian Pharmacopoeia (IXth edition) — in order that they could be admitted as drugs. The melanome and the E vitamin are forming a subchapter where Enescu L. based on biochemical processes aserts that the melanome is an anzymopathy produced by the excess of melamine from the melanozomes of melanophores to be found in the melanocyte cytoplasma, analyzed by an excess catalysis of the thyrosinase ; also, the author demonstrates — biochemically that the deficient of the reduced glutathione, that decreases in terms of the age, induces an increased activity of the thyrosinase that transforms the tyrosine into melanine ; in the same time he considers that the excess of thyrosinase determines the formation of excessive melanines that are from 20 to 30 higher times in the melanome than in the normal cells ; he affirms that the biochemical process that induces the excess may be inhibited by balancing the redox potential by means of antioxidative vitamins : E, C, A, K as well as by the hydroquinone. He also biochemically shows how the U. V. radiations stimulate the melanogenesis when the redox potential is out-of-balance and when it may be rebalanced by means of the above metioned antioxidants (vitamins E, C, A, K and the hydroquinone)

Based on biochemical reactions L. Enescu considers an association of the tocopherols with selenium salts (dicarbonic monoselenium) is useful in the melanome therapy since, selenium is known to posses a high capacity to transfer electrons and protons taking part into the control potential of redox in the cells to which is sinergically added the action of the dicarboxylic acid that inhibits the thyrosinase and is lysing the distruction of the melanocytes. He also shows that zinc lactate inhibits melanogenesis too, and, therefore it mus be associated with the E vitamin in the therapeutics and prophylaxy of melanome as well as in the prostaglandins PGA_1 and PGA_2 that inhibit the biosinthesis of the ADN in the melanome cells. The authors show in this chapter that in the mythocondries of the cells that would have being will maligniz the forst biochemical lesion, appears at the acetyl-CoA-piruvate-dehydrogenase enzims and citrate synthesis, by bloking the formation of the CoA-acetyl and citric acid in the Krebs cycle ; therefore they propose that, in incipient phases of melanome to administrate drugs that are bringing in the metabolism several acetyl groups (such as pentaacetylglucose — known as Pagosten).

The chapter 19 comprises the veterinary vitaminotherapy, where the diseases appearing in the vitamin E deficiency in animal and bird organisms, the affected tissues and organs, reproduction problems etc. as well as the prophylaxy to be applied to prevent and treat them by means of the E vitamin. In the chapters 20 and 21 the incompatibilies of the E vitamin wiht the oxidative substances are described and with those that by

Scanned with OKEN Scanner

hydrolysis give an alkalinic reaction, and some observations imposed for the injectable solutions of the E vitamin, the association with tensioactive substances, known as increasing the permeability of cell membranes, thus favorizing the vitaminic resorption.

The E vitamin is presented in the chapter 22 where the biochemical utility due to the antioxidative action of this vitamin in the possibility of storing some food, that vary in terms of the pH, envirovmental agents, temperature, the substrate, in terms of their concetration etc.

The F vitamins

The history, the nomenclature and the chemical structure of these vitamins are dealt with in the firts and second chapters showing the reasons for which the fat essential nonsatured acids (lynolic, lynoleic and arahydonic) form the „F vitamin" used in therapeutics In the chapter 3 the phisico-chemical properties are mentioned alongiside the synthesis and biosynthesis of arahydonic acid in the animal organisms, and the byosynthesis of the lynolic and lynoleic acids in superior plants. The methods of dosing : physico-chemical and biological ones, together with the chemical and biochemical tests are described in the chapter 4. The distribution in nature as well as their quantitative level of essential fat acids contained by some food products are comprised in the chapter 5 ; in the same chapter two tables are included presenting the quantitative percentage of lynolic and lynoleic acids in vegetal oils and in animal fats.

The process of oxidative rancidity is explained by — oxidation and autooxidation of the nonsaturated fat acids.

In the chapter 6 the resorptinion of essential fat acids with the way they have run in the organism, is described as well as the metabolic transformations and the spots of storaging the depositing fat the organism. The authors also present biochemical processes occuring at the at hepatic cell level, where part the F vitamin is transformed into various phosphatides. The chapter 7 comprises the physiological rôle played by F vitamins, indicating their participation into the structure of mythocondrial membranes and of the breathing enzymes. The symptomatology is also shown and the pathological states induced by their deficiency in the human and animal organisms, as well as the correlation between the presence of the double bond C_9-C_{10} and $C_{12}-C_{13}$ in the case of the lynolic and lynoleic acids, and their physiological and pharmacodynamic activity. The biochemical mecanism of transforming the F vitamin in the 16 known prostaglandines out of the 6 series (PGE, PGA, PGR, PGF, PGC, PGD) as well as their biological effects upon the central nervous system, the vegetative innervation, the sensitive nervous terminations, upon the broncho-pulmonary and gastro-intestinal system, the glandular hormons, the blood figurative elements upon the metabolic processes (lipidic, glucidic proteic and nucleoproteic) are also shown.

In the chapter 8 the necessities of the organism for nonsaturated fatty acids as regards its evolution, sex and physiological condition are presented. The symptomatology of F hypovitaminosis is described as concerns the sucklings and children (eczemas, hair falling) while at the grown ups with the modification of the sanguin picture, the

skintrophic desorders, diesturbances of the hepatic, ovarian, and testicular functions, the renal lesions, distrubances of the lipidic metabolism are treated.

The chapter 9 comprises the interaction between the F vitamins and the B_1 B_6, B_{12}, C, A, K, D vitamins and some hormones (cortysone) hydro-cortysone, diethylstilbistrol, oestrone, adrenalin, noradrenalin, serotoniene). Their aterogenous effect is emphasized as well as their intervention in some enzymatic systems (lipoxidose, catalasys, peroxidase).

In the chapters 10 and 11 are given the activity units and the pharmaceutical and cosmetic products containing the F vitamin with the therapeutical indications for the humans and the description of the lipotrophic action that renders it so necessary in the chronic hepatits or in cirrhosis accompanied by a fatty degeneration of the liver. This vitamin action in prostate disordes, in arterites, in varicose veins, eczemas, pșoriasise etc.) is also presented. At the same time the veterinary vitaminotherapy comprises the employing of the F vitamin in state of deficiency, the symptomatology of which is also described and the influence upon the functions of teguments, upon the lipidic metabolis etc.

The K vitamins

After relating the history and structure of the K vitamins that cover the chapter 1 and 2, a amethod of isolating them out of plants as well as the synthesis methods of the K vitamin (philoquinone) (chapter 3) the physico-chemical properties are described pointing out its vitaminic redox potential. Chapter 4 comprises the group of K_2 vitamin (menoquinone) relating the possibilities of isolating the $K_2(_{35})$, $K_2(_{20})$, $K_2(_{30})$, $K_2(_{45})$ vitamins as well as their physio-chemical properties and the methods of synthesis of these vitamins. In chapter 5 the authors present the K_3 vitamin (menadione), its physico-chemical properties and the method of synthesis, and in chapter 6 the vitamins K_4, K_5 K_6, K_7 are described.

The dosage methods are presented in the chapter 7 where they describe : the physical methods (spectrografic and polarographic ones) chemical and biological methods (curative and prophylactic, the quick time, the Koller test).

The chapter 8 comprises the biogenesis of the K vitamins and in the chapter 9 the authors prezent a quantitative level of the K vitamin in food as well as the microorganisms which com supply K, vitamine. In the same chapter the necessary K vitamin values both in animals and birds —is plotted in a table.

The physiological role played by the K vitamins is described in the chapter 10- where, in the first part, the correlatoin existing between the chemical structure and physiological action, is given as well as the biochemical processes occurring starting from their absorption up to their pharmacodynamic action upon the haemostasis ; when presenting their investigation methods, the inner molecular mechanism of actions of the K vitamins in the process of the intermediary metabolism is described as regards the disturbances accompanying the various pathological states (phlebites, cirrhoses, thromboses, toxic or viral hepatites, mechanical icterus, colites a.s.o.). The role of the K vitamins in the tissular oxidoreductions, where they participate like redox system in the enzymatic complex of the breathing chain, coupled with the oxidative phosphorylation, as well as

Scanned with OKEN Scanner

O monografie de sinteză, care indică rolul vitaminelor de la biogeneza naturală, rolul biocatalitic, farmacodinamic și terapeutic în condiții fiziologice, fiziopatologice.

Constituie un ghid necesar medicinii umane și veterinare, farmaciei și biologiei, ca și unei alimentații dietetice.

ISBN 973-37-0093-2

Scanned with OKEN Scanner